

MÈTODES ANALÍTICS PER A LA DETERMINACIÓ DE MICRO- I NANOPLÀSTICS EN ALIMENTS I BEGUDES

Treball Final de Grau
Grau en Ciència i Tecnologia dels Aliments
Universitat de Barcelona

Marta Rimblas Fontserè

Tutor: Jesús Gómez Catalán
Revista: *Environmental Science & Technology*

Gener 2020

Mètodes analítics per a la determinació de micro- i nanoplàstics en aliments i begudes

M. Rimblas Fontserè

Universitat de Barcelona. Campus de l'Alimentació de Torribera.

Avda. Prat de la Riba 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet (Barcelona).

RESUM

El risc que els micro- i nanoplàstics suposen per a l'ésser humà i el medi ambient s'ha convertit en un tema d'especial preocupació en els darrers anys. La problemàtica està centrada no només en l'efecte dels microplàstics com a tals, sinó també en els additius i contaminants químics absorbits per aquests, que poden ser alliberats i en conseqüència afectar negativament la salut dels animals i el medi ambient. Tot i que, l'impacte mediambiental dels residus plàstics reuneix actualment una atenció considerable per part dels científics, els responsables polítics i el públic en general, l'impacte sobre la salut humana de la contaminació de micro- i nanoplàstics en aliments i begudes segueix sent en gran mesura desconegut. No obstant això, malgrat que el nombre de projectes de recerca creix, la manca de mètodes analítics adequats i normalitzats, complica la comparació de resultats entre estudis i per tant, afecta seriosament la fiabilitat de les avaluacions de riscos.

Avui en dia, s'utilitzen multitud de metodologies per a la presa i la preparació de les mostres i l'anàlisi de microplàstics. En aquest treball, es revisen i es discuteixen els nombrosos problemes associats a l'anàlisi de microplàstics en mostres ambientals complexes, des del mostreig i manipulació de les mostres fins a la identificació i quantificació de micro- i

nanoplàstics. També es proporciona informació sobre propostes pel control analític i la garantia de la qualitat associada a la validació de mètodes, així com l'ús de materials de referència per a la quantificació de microplàstics. Finalment, aquesta revisió aborda els principals avantatges i inconvenients de les tècniques analítiques, i es realitzen recomanacions dels mètodes que s'ha comprovat que poden ser més adequats.

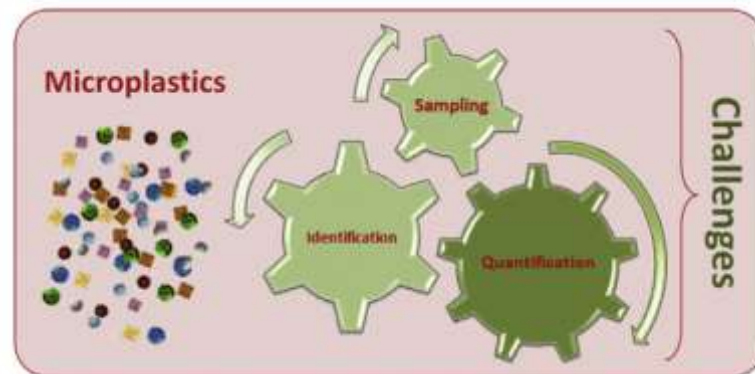


Figura del resum.

INTRODUCCIÓ

Gairebé al voltant del 80% dels 8.000 milions de tones de plàstic produïdes fins a dia d'avui, es troben en abocadors o al medi ambient.¹ No hi ha una definició reconeguda internacionalment per als microplàstics, però es podrien definir com a polímers orgànics sintètics de diferents formes (fragments, fibres, esferes, grànuls, pellets, flocs, etc) i de mida >100 nm i < 5 mm.² Entre els microplàstics, els plàstics dissenyats intencionadament es classifiquen com a microplàstics primaris.³ Sota els efectes combinats de factors fisicoquímics i ambientals, com ara la radiació ultraviolada (UV), l'abrasió mecànica i l'acció microbiana, les restes de plàstic es degraden progressivament fins a una infinitat de microplàstics secundaris.⁴ De la mateixa manera, els nanoplàstics, de mida entre 1 i 100 nm, es poden produir per degradació de microplàstics o poden alliberar-se directament de fonts industrials i domèstiques.² (Figura 1)

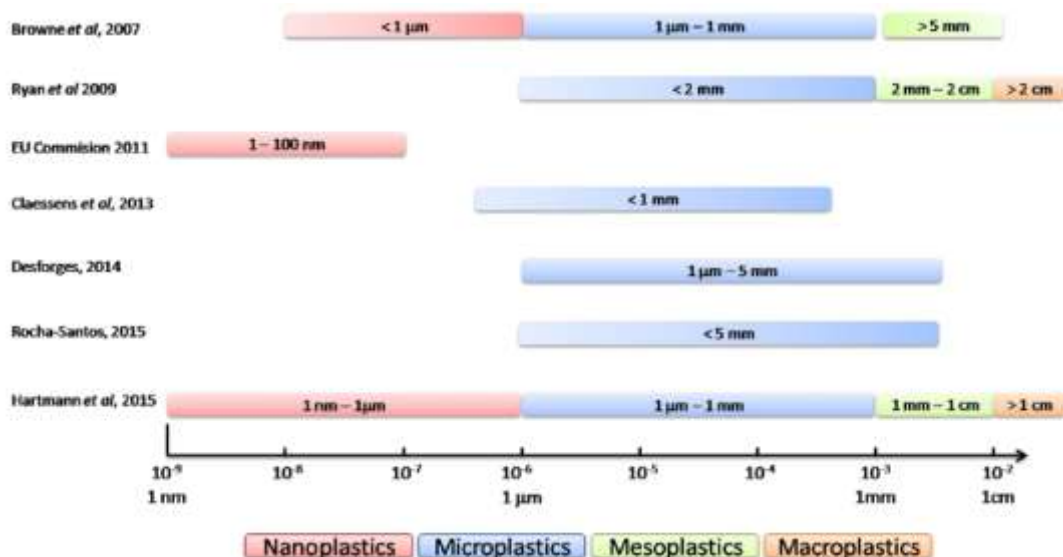


Figura 1. Diferents definicions de mides dels plàstics proposades per diversos autors. (Rocha-Santos and Duarte, 2015,⁵ Hartmann et al., 2015,⁶ Browne et al., 2007,⁷ Ryan et al., 2009,⁸ EU Commission, 2011,⁹ Claessens et al., 2013,¹⁰ and Desforges et al., 2014¹¹). *Sci. Total Environ.* 2016, 15-26. Copyright 2016 Elsevier.¹²

Els micro- i nanoplàstics es poden trobar a l'aire, a l'aigua, als sediments i a organismes terrestres i aquàtics. Les seves fonts principals varien, però provenen en gran mesura dels plàstics d'un sol ús, equips de pesca, peces de vestir, cosmètics, tèxtils agrícoles, pintures, pneumàtics, pols urbana, etc. Poden passar per plantes de tractament d'aigües residuals que no estan dissenyades específicament per retenir-los. En conseqüència, la seva distribució està influenciada pels moviments d'aigua i d'aire, com els corrents i els vents marins, i per la densitat de partícules.¹³ En particular, els oceans acumulen plàstics i, per tant, la flora i la fauna oceànica s'hi veu exposada.¹

Els microplàstics són coneguts per adsorbir contaminants químics, com ara metalls pesants, hidrocarburs aromàtics policíclics (PAH), bifenils policlorats (PCB), pesticides organoclorats (OCP), productes farmacèutics^{14,15,16} i additius industrials, com els èters difenílics polibrominats (PBDEs) i plastificants ftalats.¹⁷

Una vegada que els micro- i nanoplàstics s'introdueixen al medi, són difícils d'eliminar. Amb la disminució de la mida dels plàstics, aquests es tornen més biodisponibles i els fa ser fàcilment ingerits per una gran varietat d'organismes aquàtics a diferents nivells tròfics.³ S'ha comprovat que la seva ingesta en organismes aquàtics pot causar una sèrie d'impactes negatius sobre la seva salut, com ara: lesions mecàniques, falsa sacietat, baixa taxa de creixement, augment de la resposta immune, esgotament d'energia, producció d'enzims bloquejadors, disminució de la fecunditat, estrès oxidatiu i fins i tot morbiditat.¹⁸ A més, els microplàstics amb contaminants tòxics, poden causar perills toxicològics per als animals aquàtics un cop consumits aquests microplàstics.¹⁹ Els nanoplàstics, a causa de les seves reduïdes dimensions, plantegen una preocupació particular, ja que poden pertorbar les membranes cel·lulars.²⁰

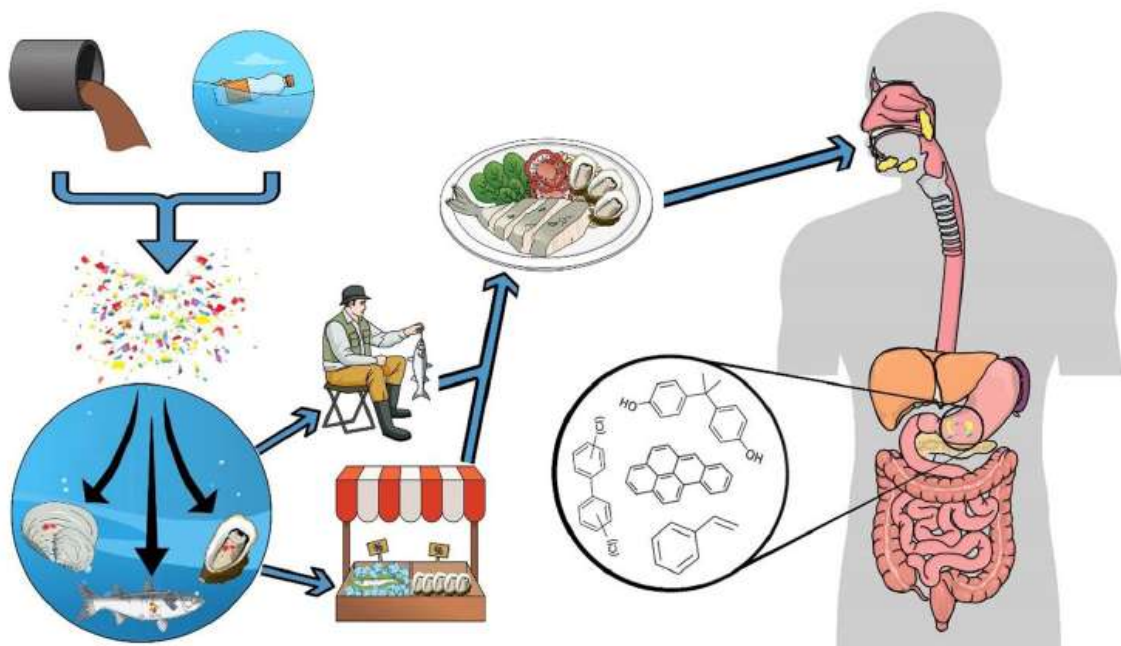


Figura 2. Un model que mostra com l'activitat antropogènica fa que els microplàstics entrin a la cadena alimentària. *J. Food Sci. Technol.* 2019, 1-8. Copyright 2019 Springer Link.¹⁷

Una hipotètica amenaça per a la salut humana es pot produir per la ingesta de micro- i nanoplàstics a través de la cadena alimentària (Figura 2). L'impacte sobre la salut humana pot

77 derivar de la naturalesa química-física dels plàstics i del possible dany al teixit que poden
78 causar, però també pel fet que puguin ser portadors de productes químics potencialment tòxics
79 i microorganismes.^{13,21} Tanmateix, una avaluació efectiva del risc només es podrà fer quan es
80 disposin de dades més concloents d'exposició humana.

81 Malauradament, hi ha poques dades sobre la presència de micro- i nanoplàstics a la dieta
82 humana. Tot i que, s'està veient que la captació de microplàstics per part d'espècies
83 comercials de peixos i mariscs, sembla que s'hauria de considerar com una via potencial per al
84 consum humà.¹⁷

85 Per a realitzar una adequada avaluació del risc, calen mètodes analítics adequats per a la
86 detecció i quantificació de micro- i nanoplàstics per determinar els nivells d'exposició al medi
87 i a la cadena alimentària. Tanmateix, és important tenir en compte que hi ha una gran varietat
88 de microplàstics, no només per la mida, forma i colors de les partícules, sinó també per la
89 composició química, cosa que suposa un repte considerable per als avaluadors del risc.^{2,22}

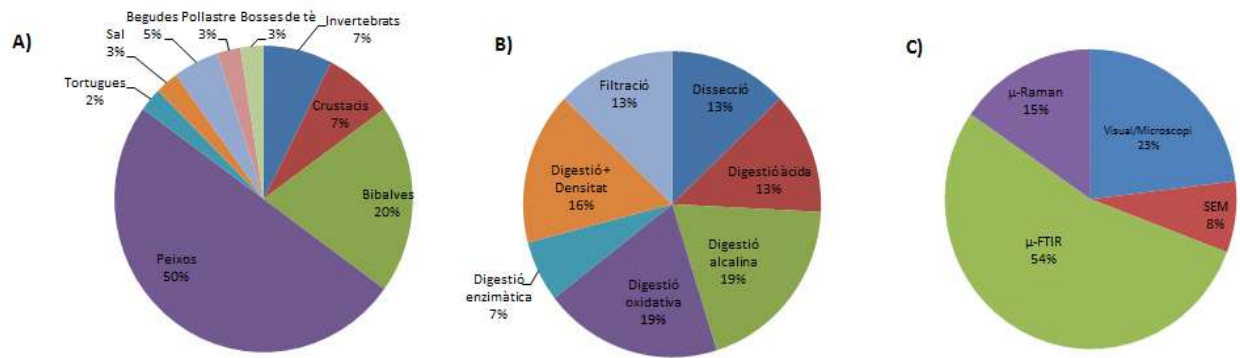
90 En revisar la literatura científica es fa evident que hi ha una àmplia varietat de tècniques
91 utilitzades en el mostreig, processament, identificació i quantificació de microplàstics en
92 diferents matrius ambientals. Tot i així, la falta de criteris metodològics estandarditzats és el
93 principal problema que impedeix la comparació entre les dades disponibles. L'objectiu
94 principal d'aquesta revisió és donar una visió general completa dels mètodes de mostreig,
95 maneig, processament i anàlisi instrumental que s'utilitzen actualment per a la detecció i
96 quantificació de microplàstics en mostres d'aigua, begudes i matrius complexes com són els
97 aliments. També es discuteixen els avantatges i les limitacions d'aquests mètodes i els punts
98 de control i garantia de la qualitat durant tot el procés analític.

REVISIÓ DE MÈTODES

Al Octubre de 2019 es va realitzar una cerca bibliogràfica consultant les bases de dades d'*Scopus* i *PubMed* i combinant els termes: microplàstics, nanoplàstics, menjar, mètodes, peix, marisc, aigua, digestió, enzimàtic, separació, extracció, densitat, filtració, FTIR, Raman i piròlisi. Es van seleccionar els articles i revisions publicades a partir de l'any 2016 (any de publicació de l'informe de l'Agència Europea de Seguretat Alimentària (EFSA) sobre la identificació de micro- i nanoplàstics en el menjar i en especial focus al marisc) fins a l'actualitat. D'aquests estudis, també es va tenir en compte que en tots ells hi hagués alguna relació entre els microplàstics i el menjar, que descrivissin algun tècnica analítica o que comparessin dos o més tècniques analítiques. Es van seleccionar un total de 233 articles, dels quals al voltant de 116 contenien dades que es podrien utilitzar en aquesta revisió. En total, s'han recollit dades sobre la contaminació de microplàstics de 36 espècies d'animals comestibles (3 invertebrats, 3 crustacis, 8 bivalves, 20 peixos, 1 tortuga, 1 pollastre), alguns productes alimentaris (sal marina de taula), així com bosses de té, cervesa i aigua potable.

Amb l'objectiu de millorar i harmonitzar els mètodes per als futurs estudis, a partir de la literatura revisada s'han analitzat i comparat els diferents passos de l'anàlisi de microplàstics: mostreig, separació, quantificació i identificació de polímers, així com la gestió de la qualitat per la seva importància en la validació de resultats.

D'altra banda, a la [taula 1](#) (disponible a l'apartat de [Informació de suport](#)), es mostra un resum del procés analític seguit per 22 estudis concrets realitzats a mostres biològiques complexes ([Gràfic 1A](#)), amb l'objectiu de visualitzar les diferències i similituds dels mètodes emprats entre els diferents estudis. Amb aquesta comparació es pretén posar en evidència la necessitat d'una normalització dels mètodes analítics entre diferents laboratoris.



Gràfic 1. (A) Mostres biològiques analitzades (B) Mètodes de separació utilitzats. (C) Mètodes de identificació i quantificació utilitzats. Els resultats s'han obtingut de 22 estudis revisats. El recompte de les mostres es pot consultar a la [taula 2](#) de l'apartat [Informació de suport](#).

1. MOSTREIG I PREPARACIÓ DE LA MOSTRA

1.1. Mostreig

A l'hora de realitzar el mostreig, una de les primeres mesures que s'han d'adoptar és evitar la contaminació creuada per partícules de plàstic procedents d'altres fonts. Tots els procediments de recollida i de pretractament han d'estar exempts d'elements que continguin plàstic per evitar la contaminació de les mostres.²³ El ICES (*International Council for the Exploration of the Sea*) especifica en el seu protocol una sèrie de directrius bàsiques que es poden aplicar tant en el mostreig d'espècies marines com per altres tipus de mostres (aigua i sediments). Algunes premisses que s'especifiquen en el protocol serien: informar del tipus de xarxa en el cas de que es faci servir, netejar les xarxes previ a la realització del mostreig, representativitat de les mostres de peixos per la zona de recollida i el total d'individus recollits per tipus d'espècie.²⁴

Per transportar les mostres es poden utilitzar ampolles de vidre, contenidors de metall, filtres de metall o paper. Cal rentar els utensilis rigorosament i es pot utilitzar paper d'alumini per protegir-los abans del seu ús. S'aconsella l'ús de bates de cotó i guants de nitril a l'hora de manipular les mostres.²⁵

1.1.1. Mostres d'aigua

S'aconsella recollir grans volums d'aigua degut a que els microplàstics no acostumen a estar en grans concentracions en el medi ambient. Per la recollida de mostres d'aigua marina el més habitual és utilitzar diferents tipus de xarxa (bongo, plàncton, manta, nèuston). L'avantatge d'utilitzar xarxes és que no requereix massa infraestructura, és un equipament força disponible i permet recollir de forma ràpida grans volums de mostra a nivell de superfície.²⁶

Per recollir mostres d'aigua a més profunditat es pot utilitzar el propi sistema de bombeig del vaixell. Tot i que presenta l'inconvenient de que poden existir peces de plàstic ocultes del propi equipament del que no es pot tenir el control.²⁷ El mateix passa quan es recullen mostres procedents de plantes de tractament d'aigües, ja que s'utilitzen els punts de mostreig de la pròpia planta, els quals també poden contenir parts fabricades amb plàstic. L'ús de mostres de control hauria de poder corregir aquests problemes.²⁸

El mètode idoni hauria de poder recollir mostres representatives, poder-se utilitzar en diferents tipus de condicions, tant en aigües marines com superficials, potables o procedents de plantes de tractament.²⁹

1.1.2. Mostres de sediments

Les mostres de sediments acostumen a procedir de sorra de platja, dels sediments marins o fangs de tractament d'aigües residuals.²⁵ Existeix un ampli rang de profunditats de recollida

de sediments que va de 1 cm fins a 10 cm, on s'espera obtenir diferents característiques de contaminació en funció de la profunditat.³⁰

Les mostres de sediments de fons acostumen a recol·lectar-se mitjançant un marc metàl·lic. Aquest s'introdueix dins la sorra i recull la mostra entre 5 i 10 cm de profunditat. Altres autors també utilitzen una pala o una cullera metàl·lica on només recullen els 2 cm superficials.^{25,31}

1.1.3. Mostres biològiques

La major part d'estudis utilitzen mostres procedents de musclos i mol·luscs,^{32,33,34} plàncton,³⁵ cucs³⁶ i peixos,^{37,38,39,40,41,42} pescats de forma manual, amb xarxes, comprats en mercats o procedents de laboratoris.

Les mostres recollides s'han de conservar de manera que no es malmeti el contingut intestinal, el qual comportaria pèrdues prèvies a l'anàlisi. Per aquest motiu, les mostres s'acostumen a transportar en caixes de gel i s'emmagatzemen a -20°C fins el seu posterior processament. En aquest cas, és imprescindible la recollida de blancs, ja que en el moment del mostreig els animals sempre ingereixen quantitats de plàstics o aquests s'adhereixen a la superfície de l'animal.^{42,43}

També s'han trobat estudis on s'analitza: sal de taula^{44,45}, cervesa⁴⁶, mel, sucre.⁴⁷ i tè⁴⁸.

1.2. Preparació de la mostra

Estudiar microplàstics a la cadena alimentària implica l'anàlisi d'una enorme varietat de microplàstics distribuïts en moltes matrius de fons diferents. Les matrius poden anar des de sistemes aquàtics d'aigua dolça i salada relativament simples, sediments ambientals més

complexos, fangs de tractament d'aigües residuals, fins a mostres biològiques altament complexes, com ara els tractes digestius de vertebrats i invertebrats.^{49,50} En molts casos, els materials d'interès només formaran una petita part de la mostra i la resta és una complicació per a qualsevol mètode analític utilitzat per caracteritzar els microplàstics. Així, hi ha una forta necessitat de disposar de procediments de preparació de les mostres que puguin simplificar o eliminar la matriu de fons o concentrar o extreure les partícules de plàstic de la matriu abans de l'anàlisi instrumental. Quan es requereixi una preparació de la mostra, s'han de seleccionar els procediments de mesurament que siguin els menys invasius possibles i que siguin efectius contra la matriu no desitjada mentre siguin compatibles amb el tipus de mostra.¹³

1.2.1. Preparació de mostres d'aigües i sediments

Les mostres procedents de sediments o les procedents del filtrat d'aigua, s'han de sotmetre a un procés d'assecatge al forn fins a obtenir un pes constant. Aquest procés es pot fer a diferents temperatures que comprenen des dels 50 °C fins als 90 °C (mitjançant la utilització de forns), inclús per sota de -60°C (mitjançant la utilització d'un liofilitzador). Les mostres també poden ser assecades a l'aire. Encara que s'ha vist que la millor temperatura d'assecatge seria al voltant dels 60 °C, ja que a temperatures superiors els microplàstics es podrien deformar i degradar en les etapes posteriors.^{30,51}

1.2.2. Preparació de mostres biològiques

En el cas dels peixos, el primer pas serà enregistrar algunes dades concretes com la longitud, el pes, la circumferència, el sexe i la distància màxima entre els costats dorsal i ventral.³⁰

Els microplàstics que poden estar adherits a la zona exterior dels espècimens, s'eliminen mitjançant un rentat amb aigua destil·lada o aigua de mar. En canvi, per eliminar fragments de plàstics que poden estar retinguts en els teixits o que es troben en estat transitori en el tracte gastrointestinal (d'ara en endavant TGI), es realitza una depuració, on el que es fa és introduir-los en un medi lliure de plàstics durant un temps per tal de que realitzin una evacuació intestinal completa. En aquest procediment cal netejar amb freqüència el medi amb aigua fresca i lliure de plàstics per evitar que es tornin a ingerir els microplàstics que s'han expulsat.⁴²

Alguns estudis mencionen el procés d'homogeneïtzació de la mostra com un pas necessari, ja que, depenent de la procedència les quantitats de microplàstics poden variar. Normalment es seleccionen aleatòriament les mostres recollides i es prepara una o varies mostres compostes.^{32,33} Alguns autors realitzen la homogeneïtzació mitjanant un agitador magnètic,³⁴ en canvi, un estudi ho realitza simplement mitjançant una agitació manual durant un minut utilitzant una cullera metàl·lica i on recomana evitar un excés d'agitació per tal de que les partícules de microplàstics no es fragmentin.⁵²

2. MÈTODES DE SEPARACIÓ

A la [taula 3](#) es resumeixen els principals mètodes de separació que s'utilitzen, així com els avantatges i les limitacions de cadascun d'ells. Al [gràfic 1B](#) es mostren els mètodes de separació utilitzats en els estudis revisats.

2.1. Separació per densitat/flotació/sedimentació

Aquesta tècnica s'utilitza principalment per separar microplàstics en mostres de sediments. En comparació amb els materials inorgànics, la gran majoria dels polímers tenen densitats

relativament baixes que van des dels materials més lleugers com el polietilè ($0,85 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) fins a $2,1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ en el cas de materials densos halogenats com el tefló. En aquest rang, la gran majoria dels tipus de polímers tenen densitats inferiors a $1,5 \text{ g cm}^{-3}$, que és inferior a la densitat de materials inorgànics que podrien barrejar-se amb els microplàstics. Aquesta diferència s'utilitza habitualment per extreure partícules de plàstic deixant-les flotar en solucions salades la densitat de les quals és superior als plàstics, però inferior a la d'altres sòlids, generalment minerals presents.^{13,53} La separació per densitats es realitza utilitzant una solució saturada de clorur de sodi (NaCl) ($1.2 \text{ Kg NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$). S'introdueix la mostra en un Erlenmeyer juntament amb la dissolució de NaCl, s'agita vigorosament i, una vegada que sedimenta, es recull el líquid sobrenedant, es filtra i s'asseca a 60°C .^{25,31,54} Aquest mètode només és capaç d'extreure partícules de plàstic de densitat inferior a $1.2 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Com a alternativa, es poden utilitzar solucions saturades de clorur de zinc (ZnCl_2) ($1,7 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$)¹³, de clorur de cesi (CsCl) (densitat màxima $1.9 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) o politungstat de sodi de densitat variable. Aquestes solucions són capaces d'extreure plàstics de densitats superiors²⁵. Una altra opció és utilitzar iodur de potassi (KI) al 50% per a polímers més densos que l'aigua.¹³ Altres solvents utilitzats inclouen aigua de mar filtrada i aigua destil·lada.⁵⁵ Segons la mida i la densitat de les partícules, es pot aconseguir sedimentació o flotació mitjançant la força de gravitació normal, però es pot accelerar mitjançant l'ús adequat de centrífugues de laboratori.¹³

No obstant això, les sals d'alta densitat són generalment cares, i algunes són perilloses per al medi ambient. Per tant, amb l'objectiu d'aconseguir una eficiència d'extracció més elevada i minimitzar la contaminació ambiental, es recomana reciclar solucions de sal pesada i repetir el procés d'extracció.⁴

La flotació pot aconseguir una separació gairebé completa en el rang de mida del mil·límetre. No obstant això, poques vegades s'utilitza flotació per a partícules de plàstic que són massa petites per ser manipulades manualment a causa de la dificultat de recuperació de la interfície

aire-líquid. A més, la flotació és incompatible amb les fraccions de plàstic de mida més petita, ja que la força del flotant és baixa i l'embrutiment superficial pot canviar significativament la densitat de les partícules. Una altra preocupació és que la fixació de bombolles a partícules no plàstiques pot portar partícules més denses a la interfície aire-líquid.⁵⁶

Si les mostres contenen un alt percentatge de matèria vegetal, alguns autors proposen un mètode on s'utilitza una solució d'etanol al 96% menys densa que la densitat de la majoria dels plàstics, però més densa que el material biogènic d'origen vegetal. Aquesta diferència permet que els plàstics s'enfonsin i la matèria orgànica floti, facilitant la seva separació. Aquest mètode no és eficaç per separar el sediment del plàstic, perquè tots dos tenen una densitat més alta que l'etanol. Això significa que aquest mètode s'ha d'utilitzar després de separar els sediments per densitat mitjançant NaCl, iodur de sodi (NaI) o $ZnCl_2$.⁵⁷ La revisió de tècniques analítiques per quantificar els microplàstics en sediments, mostra la importància de realitzar un pas d'eliminació de matrius⁵⁵.

Amb aquest mètode s'aconsegueix separar la matèria orgànica, és barat i requereix menys temps que els altres protocols.⁵⁷ A més, segons el gràfic de resistència química, l'etanol al 96% a 20 ° C no causa danys a la majoria de polímers plàstics després de 30 dies d'exposició.⁵⁸ Els danys immediats es produeixen només en polimetil metacrilat (acrílic) (PMMA) i acrilonitril d'estirè (SAN), però aquests polímers rarament es troben en restes marines.⁵⁹

2.2. Filtració

Un dels mètodes més senzills per recuperar microplàstics és la filtració, la qual pot ser adequada per aïllar i concentrar microplàstics lliures a partir de matrius relativament simples

283 (per exemple, mostres d'aigua o solucions del sobrenedant obtingudes del procés de separació
284 per densitat) mitjançant l'ús d'un medi filtrant que només permet passar el líquid.¹³

285 Els filtres més utilitzats acostumen a ser de: fibra de vidre, nitrocel·lulosa, policarbonat,
286 zooplàncton o d'isòfor.⁶⁰ La mida dels porus dels filtres varia generalment de 0,45-10 µm.^{61,62}

287 Amb la filtració sovint es produeixen complicacions perquè els líquids contenen partícules
288 que poden obstruir ràpidament els filtres i reduir la seva efectivitat. Aquest inconvenient es
289 pot resoldre amb diverses mesures útils, com ara: 1) reduir el volum de solució, 2) fer passar
290 el líquid durant un temps més llarg per facilitar la separació de partícules sòlides més pesades
291 del sobrenedant, 3) realitzar un pas de pre-filtració mitjançant un filtre amb una mida de porus
292 més gran, o 4) afegir alguns productes químics (per exemple, sulfat ferrós) al líquid per
293 flocular la fracció sòlida.⁴ Per minimitzar la pèrdua de microplàstics a causa de la seva
294 adhesió a les parets dels utensilis del laboratori, es recomana esbandir les parets de cristalleria
295 al filtre repetidament durant el procés de filtració.⁶⁰

296 L'ús de filtres amb diferents mides de malla, permet distingir categories de mida de
297 microplàstics.⁶³ La filtració seqüencial que utilitza filtres amb porus de mida cada cop més
298 petita, pot minimitzar l'obstrucció dels filtres. Tot i així, aquest tipus de filtració només
299 confirma la presència de plàstics a escala nanomètrica i no el número total, ja que és probable
300 que una part important d'aquestes partícules es perdin mitjançant l'adhesió als filtre.⁵⁶

301 També es pot utilitzar la filtració per fraccionament asimètric de flux creuat de camp, on es fa
302 passar la mostra líquida a través d'un canal. El flux creuat és induït pel líquid portador que
303 surt constantment per la paret semi-permeable a la part inferior del canal. D'aquesta manera,
304 es poden concentrar partícules petites de la mida dels nanoplàstics i partícules fraccionades
305 per mida, respectivament.⁶⁴

Les mostres d'aigua procedents de plantes de tractament presenten la dificultat afegida de contenir matèria orgànica i altres elements flotants. Per poder separar els microplàstics adherits d'altres sòlids, un estudi proposa utilitzar SDS (sodi dodecil sulfat) com a sulfatant abans de filtrar les mostres.²⁸

2.3. Separació pel comportament hidrofòbic

La separació hidrofòbica de microplàstics de matrius ambientals no s'ha aplicat amb èxit en alguns estudis. La flotació per escuma s'utilitza per separar minerals per la força de les interaccions hidrofòbiques, on les partícules hidrofòbiques s'adhereixen a la superfície de les bombolles que posteriorment transporten les partícules a la interfase aire-líquid. En canvi, la flotació per escuma podria no ser adequada per a la separació analítica de plàstics perquè les bombolles poden tenir un comportament imprevisible que pot provocar grans pèrdues de partícules.⁵⁶

Molts plàstics són relativament hidròfobs en comparació amb les partícules minerals i això es pot utilitzar per extreure'ls preferentment de materials aquosos. Un estudi realitza l'extracció de microplàstics amb oli de colza aprofitant les propietats oleofiliques dels plàstics per separar-los de medis aquosos dividint-los preferentment en l'oli immiscible en l'aigua.⁶⁵

Recentment, s'ha desenvolupat un mètode que extreu els plàstics de fins a 15 µm de forma magnètica, aprofitant la seva superfície hidrofòbica. El mètode consisteix en crear nanopartícules hidrofòbiques de ferro per fer que s'uneixin al plàstic, permetent la recuperació magnètica.⁶⁶

2.4. Extracció per fluids pressuritzats

L'extracció per fluids pressuritzats és un mètode que permet quantificar i identificar microplàstics en diferents mostres ambientals (aigua, sòls i residus urbans). Aquesta tècnica utilitza un extractor de fluids pressuritzats on es fa l'extracció en dos passos. Primer s'utilitza metanol com a dissolvent a una temperatura de 100 °C on s'extreuen tots els compostos orgànics semi volàtils com greixos i olis. A la segona extracció, es recupera la fracció de microplàstics utilitzant diclorometà a 100 °C i a pressions de 1500 p.s.i. Ofereix bons resultats per PET (Polietilè Tereftalat-Polièster) i PS (Poliestirè), i no tant per PP (Polipropilè) i PE (Polietilè), on es necessita augmentar les temperatures entre 180-190°C per millorar l'extracció. Després d'evaporar a sequedat l'extracte de diclorometà, s'analitzen els microplàstics amb FT-IR per identificar-los. És una tècnica simple, econòmica, ràpida i que aporta uniformitat a l'hora de quantificar resultats en forma de concentracions i no en número de partícules com fan altres mètodes.⁶⁷

2.5. Separació per dissecció

La dissecció és molt fàcil de realitzar i implementar. Això podria explicar per què sol preferir-se en estudis de microplàstics, i en particular quan el mostreig és gran.⁴²

En una gran proporció d'estudis, els investigadors s'orienten a teixits específics, principalment al TGI (inclosos l'estómac i l'intestí). Per a l'extracció de microplàstics procedents de peixos, mol·luscs i espècies de mides més grans, el procediment més habitual és observar mitjançant un estereomicroscopi el contingut de l'estómac i els intestins prèviament disseccionats.^{39,42,43,68,52} A continuació, el contingut es separa en mostra d'aliment i mostra de fragments de residus, els quals es classificaran posteriorment com a microplàstics o no.⁴²

Mitjançant l'extirpació d'òrgans concrets com el fetge, també es poden determinar plàstics de mida superior a 0,5 mm. En canvi, quan es volen determinar els riscos relacionats amb el consum humà, també s'analitza el teixit de parts comestibles com serien les cues de les gambes.⁴²

Tot i així, hi ha alguns problemes sobre l'ús de la dissecció per aïllar microplàstics. El primer desavantatge és el temps d'inspecció de la mostra, que pot durar de 10 minuts fins a 1 hora i 30 minuts, provocant un alt risc de contaminació del medi de treball.⁶⁹⁻⁷¹ La segona limitació important amb aquesta metodologia és el risc d'ometre partícules. El primer motiu d'aquestes omissions és que de vegades es realitzen disseccions a simple vista, cosa que no és prou precís per distingir tots els microplàstics. El segon motiu és que, segons la seva mida i forma, els microplàstics poden ser difícils d'observar entre el contingut del TGI.²³

2.6. Separació per criosecció

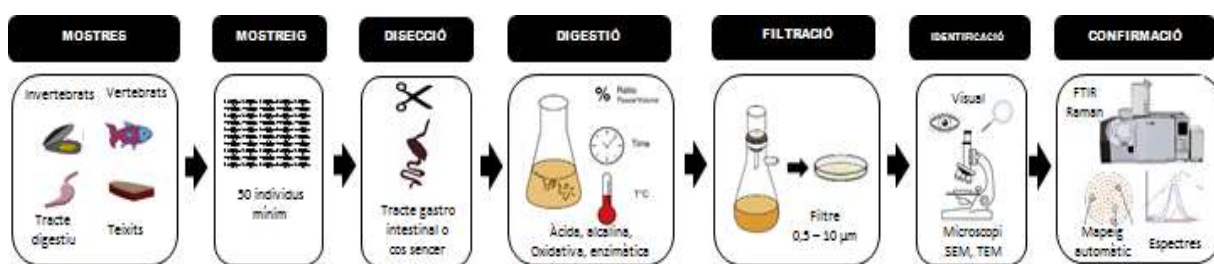
La criosecció és una tècnica que consisteix en fer làmines de teixits congelats. Aquesta tècnica s'utilitza en un estudi on s'analitzen fetges d'anxoves. Aquests fetges es van mantenir congelats des del mostreig fins al tall. Una vegada es van descongelar els fetges, es van incorporar en una resina de temperatura òptima de tall, principalment feta de glicols solubles en aigua. Les seccions de fetge congelades de gruix de 16 mm es van observar sota la llum polaritzada d'un microscopi i les partícules d'interès van ser analitzades mitjançant espectroscòpia Raman.⁷²

2.7. Separació per digestió

Quan els microplàstics estan presents en matrius biològiques complexes, com ara el teixit i els òrgans dels animals, és possible que els processos de separació física descrits anteriorment no

377 siguin efectius.¹³ Per aquest motiu, l'etapa de digestió és crucial per poder reduir o eliminar de
 378 la matriu de la mostra qualsevol resta de matèria orgànica que pugui emascarar la quantitat
 379 real de microplàstics (Figura 3). En aquest moment és important l'elecció del reactiu, ja que
 380 en ocasions aquests presenten problemes de degradació dels plàstics continguts en la mostra o
 381 la fragmentació de les partícules, i això implica errors a l'hora de reportar els resultats.⁶⁸

382 Tot i que existeixen diferents processos de digestió i es poden utilitzar diferents reactius,
 383 l'OSPAR (Convenció per a la Protecció del Medi ambient Marí del Nord-est de l'Atlàntic)
 384 proposa una sèrie de recomanacions a fi de prevenir la degradació dels polímers per evitar les
 385 pèrdues de partícules.⁷³



388 **Figura 3.** Esquema d'una possible proposta de les etapes del procés analític en la
 389 determinació de microplàstics en mostres biològiques complexes.

391 2.7.1. Digestió àcida

392 Els procediments acostumen a incloure tractaments d'àcids oxidants amb diverses
 393 combinacions d'àcid clorhídric (HCl), àcid nítric (HNO₃), àcid perclòric (HClO₄) i àcid
 394 hipoclorós (HClO) amb i sense peròxid d'hidrogen (H₂O₂).¹³ Tot i així, alguns polímers tenen
 395 una baixa resistència als àcids i també es poden degradar, especialment en altes
 396 concentracions i temperatures elevades. No obstant això, si s'utilitzen en la concentració i

397 temperatura òptima es pot eliminar eficientment el material biològic en un període de temps
398 raonable.³⁰

399 L'àcid nítric és l'agent més usat degut a la seva alta capacitat per dissoldre la matèria
400 orgànica. Un estudi va trobar que l'escalfament de HNO₃ (55%) a 80 °C permet digerir el
401 teixit de peix 26 vegades més ràpid que altres procediments. Tot i així, s'aconsella tenir
402 precaució en escalfar les solucions de digestió per sobre dels 60 °C, ja que aquestes
403 temperatures poden danyar alguns polímers. En aquest mateix estudi s'informa que PE,
404 HDPE, PS, polièster i PVC van sobreviure a l'àcid nítric a temperatura ambient durant un
405 mes, només amb la degradació del niló i el blanqueig del PVC. No obstant això, l'àcid nítric
406 pot deixar residus oliosos o restes de teixit, causant pèrdues de niló i fusió de PS, LDPE
407 (polietilè de baixa densitat), PET i HDPE (polietilè d'alta densitat).⁷⁴ Altres estudis també
408 informen sobre pèrdues de PP, PVC (clorur de polivinil) i PET.^{50,75,76,77}

409 Tanmateix, un altre estudi va informar que HCl (37%) a 25 °C tenia una eficiència de la
410 digestió > 95%, però es perdia PET.⁷⁸

411 El protocol de digestió recomanat per el ICES utilitza una mescla d'àcids HNO₃ (65%):
412 HClO₄ (68%) (4:1 v:v) a temperatura ambient, el qual evita el residu oliós que s'observa amb
413 altres protocols.²⁴ Tot i que un altre estudi informa que aquesta mescla d'àcids resulta massa
414 agressiva per alguns polímers.⁷⁹

415 Un altre estudi realitza la digestió amb un programa de destrucció per microones i àcid
416 nítric.⁶⁸

417 Aquestes diferències poden reflectir que diversos protocols, amb variacions en la concentració
418 i la temperatura poden afectar l'eficiència de la digestió.²⁶

419

420

2.7.2. Digestió alcalina

La digestió alcalina utilitzant solucions concentrades de bases com hidròxid de sodi (NaOH), hidròxid de potassi (KOH) o hidròxid de tetrametilamonium és eficaç per hidrolitzar materials de matrius biològiques complexes com ara teixits i òrgans d'animals. Una comparació dels processos de digestió àlcalis i àcids demostra que la digestió alcalina es pot utilitzar amb una gamma més gran de polímers i presenta un menor risc de modificar químicament o danyar estructuralment les partícules.¹³

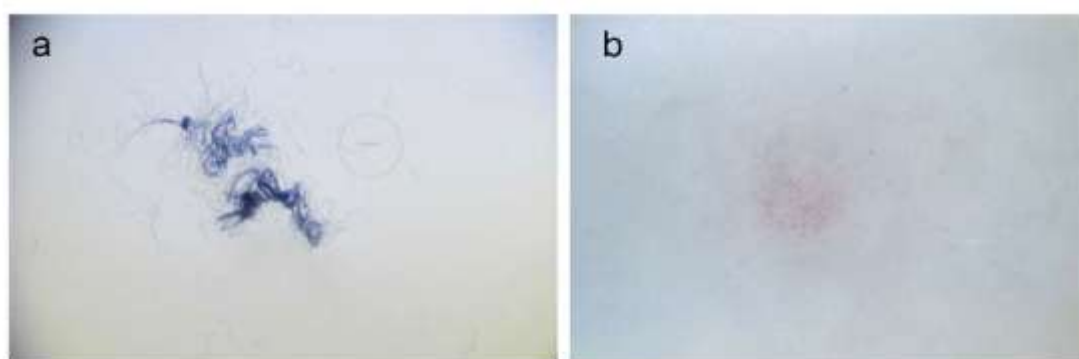


Figura 4. Imatges de fibres de PE, a) abans i b) després de ser digerides amb NaOH (40%).
Mar. Pollut. Bull. 2018, 129.1: 61-69. Copyright 2018 Elsevier.⁵⁹

No obstant això, la digestió alcalina també pot danyar o decolorar els plàstics,³⁰ deixar residus oliosos i fragments ossis^{50,77} o tornar a dipositar els residus de teixit a superfícies del plàstic, complicant la caracterització posterior.⁸⁰ KOH realitza una bona digestió de matèria orgànica i recuperació de plàstics.⁷⁵ Els protocols que utilitzen KOH (10%) a 60 °C durant tota la nit⁷⁷ o 60°C durant 24 h⁵⁰ van mostrar que va ser un dels tractaments digestius més efectius, així com NaOH.³⁵ Tot i així, KOH pot causar decoloració d'alguns polímers.^{35, 77,78,81,82} El NaOH també pot provocar degradació i canvi de color de determinats polímers.⁵⁰ (Figura 4) En quant a l'eficiència de la digestió, un estudi va aplicar el procés de digestió amb KOH (1 M) durant dos dies a temperatura ambient a diverses mostres de matèria orgànica que sovint es troben a

les platges (és a dir, algues marines, becs de calamar, bigotis de foca, otòlits de peix, plomes d'aus, ganxo de peix metàl·lic, parafina i greix de palma). Aquest estudi va revelar que les parts dures i els greixos, sembla ser que no són digerits completament per l'àlcali.⁸¹

La digestió àcida i l'alcalina també es poden utilitzar de forma seqüencial (per exemple, NaOH i HNO₃) amb una bona digestió del material biològic i bones taxes de recuperació.⁸³

2.7.3. Digestió oxidativa

Els agents oxidants són reactius que també s'utilitzen en la digestió de mostres de teixits d'animals marins, però presenten el problema de la falta d'estabilitat de les seves dissolucions, i que per tant, cal tenir en compte a l'hora d'estandarditzar un mètode.²³

Un dels agents oxidants més utilitzats és el peròxid d'hidrogen (H₂O₂), on la concentració més comunament utilitzada acostuma a ser del 30% en mostres de peix i bivalves.^{40,84-86} Tot i que en un estudi desenvolupen un nou protocol d'extracció en el que s'aconsegueixen rendiments d'extracció del 95% per PP i PS amb dissolucions de H₂O₂ al 15%. Tot i això, diversos estudis assenyalen que l'escuma excessiva que es produeix amb aquest mètode pot enfosquir les mostres o provocar pèrdues de mostres.⁴²

Altres estudis també utilitzen NaClO al 9% durant tota la nit.⁸⁷ Un estudi amb mostres de fetges d'anxoves comprova que aquest reactiu no afecta als materials plàstics presents en la mostra. Si a més, la mostra és tractada amb una mescla de clorur de sodi i àcid nítric (NaCl/HNO₃) es millora la degradació, podent digerir partícules d'origen antropogènic sense afectar els microplàstics, la qual cosa no s'aconsegueix només amb NaClO.⁷²

Altres consideracions a tenir en compte serien les reaccions secundàries que es poden produir durant el procés de digestió. L'escalfament del H₂O₂ pot donar lloc a O₂ i el NaClO no hauria de posar-se en contacte amb àcids per evitar la formació de diclor (Cl₂).²³

2.7.4. Digestió enzimàtica

La digestió enzimàtica amb enzims com: *proteïnasa K*,^{35,76,88} *quitinasa*,⁸⁹ *tripsina*,⁹⁰ *proteases*,⁷⁵ enzims pancreàtics,⁹⁰ *cel·lulasa*⁹¹ o mescles d'enzims,⁹² també ha estat utilitzada amb èxit per a la digestió de teixits específics, ja siguin sols o en combinació amb digestius químics. (Figura 5)

La *proteïnasa K* és capaç de digerir més del 97% de la matèria orgànica sense causar danys als microplàstics continguts a la mostra. El principal avantatge de la digestió enzimàtica és que és relativament no agressiu, cosa que fa que no es puguin danyar les matèries polimèriques d'ús comú i que sigui intrínsecament més segura per als treballadors de laboratori. Els desavantatges són que els enzims són específics per a certs tipus de matrius (proteïnes, hidrats de carboni, greixos, etc.) i les mostres complexes poden requerir l'ús de diversos passos seqüencials per eliminar adequadament els components de la matriu.¹³ Això comporta la utilització de solucions múltiples amb un risc més alt de contaminació.²³ A més, els enzims són sensibles al seu entorn, poden tenir una activitat variable segons el seu tipus i origen, i la seva activitat específica pot canviar durant l'emmagatzematge.¹³ Finalment, els costos de la digestió enzimàtica poden ser significativament més elevats que els de la digestió química ja que el procediment que cal seguir és prolongat i requereix un augment de temps dels investigadors quan es planteja el mostreig i el seguiment a gran escala.⁴²

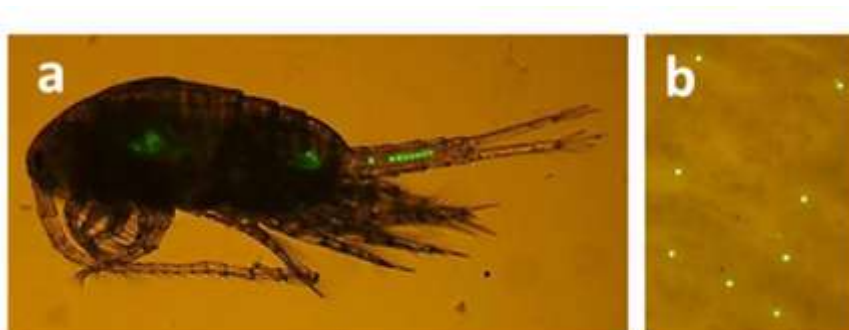


Figura 5. (a) Microplàstics de poliestirè fluorescent de 20 mm de diàmetre ingerits pel copèpode calanoide pigmentat *Temora longicornis*; (b) Després de la digestió enzimàtica es

va mineralitzar el teixit biològic, alliberant els microplàstics fluorescents, que després es van retenir en un filtre de fibra de vidre. *Sci. Rep*, 2014. 4, 1-8. Copyright 2014 Nature.³⁵

3.MÈTODES D'IDENTIFICACIÓ I QUANTIFICACIÓ DE MICROPLÀSTICS I NANOPLÀSTICS

És difícil identificar microplàstics de diverses mides, formes i tipus, de manera completa i fiable a partir de matrius ambientals complexes i mitjançant un sol mètode analític. Per tant, la combinació de més de dues tècniques analítiques s'utilitza àmpliament.

En general, l'anàlisi dels microplàstics consta de dos passos: caracterització física dels plàstics potencials (per exemple, mitjançant microscòpia) seguida de caracterització química (per exemple, mitjançant espectroscòpia) per a la confirmació dels plàstics. Cada mètode i diverses combinacions tenen els seus avantatges i les seves limitacions.³ A la [taula 3](#) es resumeixen els principals mètodes d'identificació i quantificació que s'utilitzen, així com els avantatges i limitacions de cadascun d'ells. Al [gràfic 1C](#) es mostren els mètodes d'identificació utilitzats en els estudis revisats.

3.1.Caracterització visual: Talla i morfologia dels micro- i nanoplàstics

L'examen purament visual dels microplàstics és la tècnica més econòmica, simple i utilitzada per identificar els microplàstics ambientals mitjançant l'observació de les característiques físiques i morfològiques de les partícules. ([Figura 6](#))

La inspecció visual es realitza en molts casos com a pas previ per reduir l'elecció de possibles microplàstics que s'analitzaran posteriorment amb instruments de mesura comuns, o també s'utilitza com a mètode autònom d'elecció per a la identificació dels microplàstics.⁹³

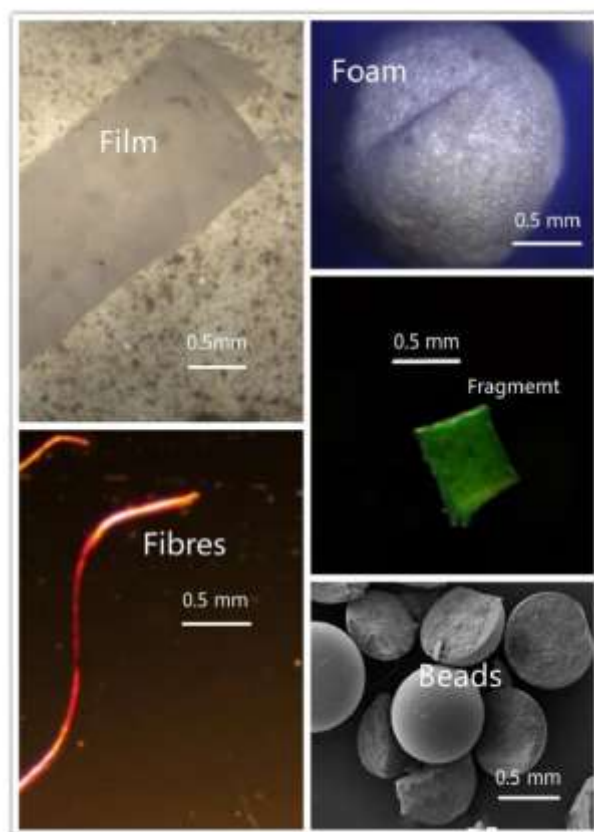


Figura 6. Exemples de diferents tipus de morfologies de microplàstics trobats en aigua fresca.

Sci. Total Environ. 2019. 135578. Copyright 2019 Elsevier.⁹⁷

3.1.1. Identificació a simple vista o per microscòpia

L'observació visual es realitza a simple vista o utilitzant un estereomicroscopi o un microscopi òptic. Tal com es recomana, és adequat per a partícules superiors a 500 µm. Tanmateix, fins i tot amb òptiques ideals, el límit de difracció ~200 nm restringeix l'observació amb la microscòpia lumínica convencional.^{4,93}

Les formes i els colors són la base principal per determinar si un element sospitós és microplàstic. Per millorar la precisió dels resultats d'identificació, es recomana seguir amb rigor una sèrie de criteris de selecció quan s'examinen visualment els microplàstics: 1) no hi ha d'haver estructures cel·lulars ni orgàniques visibles en els microplàstics, 2) les fibres han

de ser igualment gruixudes al llarg de tota la seva longitud, 3) els microplàstics han de mostrar colors clars i homogenis, 4) si les partícules són transparents o blanques, haurien de confirmar-se en un microscopi d'alta magnificació o un microscopi de fluorescència.⁶⁰

Tot i que la majoria de partícules de mida de centenars de micres es solen identificar per microscopi, les partícules del rang de mida $<100\ \mu\text{m}$ sense color ni forma típica, són difícils de caracteritzar amb confiança com a plàstics.³

La identificació visual és un mètode adequat per a mostres d'alt volum, especialment en els casos en què no es disposa d'instruments analítics costosos. Tot i així, sempre existeix un possible biaix a l'hora d'identificar els microplàstics visualment i la qualitat dels resultats d'identificació depèn de molts factors, com ara: la subjectivitat de l'examinador, la matriu de la mostra, la forma i la mida de la partícula i el microscopi utilitzat per a la inspecció. A més, hi ha microplàstics que poden presentar alguns canvis en la morfologia, fent que la identificació visual sigui encara més difícil. A mesura que disminueix la mida de les partícules que s'estan examinant, la possibilitat d'identificar erròniament per tècniques òptiques augmenta considerablement. Aquests inconvenients es combinen per introduir una elevada taxa d'error als resultats d'identificació visual. Per tant, es recomana l'ús d'alguns instruments espectroscòpics o d'altres tècniques d'anàlisi per confirmar la identitat dels microplàstics presumptes, especialment per a les partícules més petites.⁴

3.1.2. Microscopia electrònica d'escaneig (SEM)

El microscopi electrònic d'escaneig (SEM) pot proporcionar imatges d'alta resolució d'una mostra disparant un feix d'electrons d'alta intensitat a la superfície de la mostra. Els electrons representen detalls de la superfície (resolució de $<0,5\ \text{nm}$) de la mostra amb magnituds molt elevades. Els microplàstics potencials es poden diferenciar d'altres impureses orgàniques o

inorgàniques mitjançant l'examen d'imatges d'alta resolució de la seva morfologia superficial segons SEM.^{94,95} Aquest tipus de microscòpia també es pot utilitzar per analitzar el procés de meteorització dels microplàstics recuperats del medi natural mitjançant l'examen de les textures superficials destacades, com esquerdes i fosses, en aquestes partícules de plàstic.⁴ L'ús combinat de SEM i espectroscòpia d'energia dispersiva de raigs X (SEM-EDS) és capaç de proporcionar informació detallada sobre la composició elemental dels microplàstics i els additius inorgànics que contenen. La utilització de SEM-EDS ajuda a diferenciar encara més els materials naturals dels microplàstics mitjançant imatges i anàlisis elementals, cosa que redueix la quantitat de partícules necessàries per a l'anàlisi espectroscòpic.⁹⁶ Tot i que SEM s'ha utilitzat amb èxit per examinar les característiques de la superfície dels microplàstics, aquesta tècnica requereix un temps i un esforç considerable per a la preparació prèvia de la mostra i, per tant, no és aplicable per a la manipulació d'un gran nombre de mostres.^{3,95}

3.1.3. Microscopia electrònica de transmissió (TEM)

Un estudi on s'analitzen nanoplàstics provinents de la degradació de microplàstics marins, conclou que la microscòpia electrònica de transmissió (TEM) no resulta eficaç per visualitzar els nanoplàstics a causa de la seva estructura amorfa.⁹⁸

En canvi, en un altre estudi, els nanoplàstics agregats de 12 nm marcats amb luminescència dins d'una planta (*Murraya exòtica*) es van poder observar amb excitació de dos fotons i detecció en el temps.⁹⁹

Aquesta tècnica presenta avantatges en comparació amb el SEM en quant a la simplificació en la preparació de les mostres. Tot i així, encara es limita a la difracció. En estudis de degradació, s'ha utilitzat l'anàlisi de seguiment de nanopartícules per mesurar la concentració

i distribució de la mida dels nanoplàstics en suspensió, combinant les propietats del moviment brownià i la dispersió de la llum, i s'han identificat partícules de fins a 30 nm.¹⁰⁰

3.1.4.Fluorescència

Nile Red o vermell de Nil és un colorant lipofílic que ha estat suggerit com a eina per etiquetar de forma fluorescent els microplàstics quan s'irradien amb llum blava. Aquest mètode s'utilitza per a detectar i quantificar microplàstics petits (de 20 µm a 1 mm) en mostres ambientals. El mètode de tinció del vermell del Nil és barat, utilitza equips fàcilment disponibles i es pot semi-automatitzar per a l'anàlisi de mostres. L'etiquetatge fluorescent selectiu de microplàstics amb vermell de Nil i la posterior separació per densitat i posterior filtració amb un paper de filtre de policarbonat negre (PC) han estat recentment descrits a la literatura.^{77,101,102} Tot i així, és crucial l'eliminació de la matèria orgànica, que es pot tenyir amb vermell del Nil i conduir a una sobreestimació de microplàstics.¹⁰¹

Segons dos estudis, en l'actualitat cap mètode de digestió pot assegurar l'eliminació completa de la matèria orgànica, de manera que encara es podrien produir falsos positius en la tinció del vermell de Nil.^{101,102}

El mètode que es proposa en un dels estudis conclou que els fragments de diferents tipus de plàstics generen colors diferents, permetent diferenciar-los d'altres partícules i per tant conclou que es pot utilitzar aquest mètode en solitari sense necessitat de recórrer als mètodes de confirmació. Alternativament, altres estudis també proposen la utilització de l'espectroscòpia Raman per confirmar que els fragments tenyits amb vermell de Nil són només polímers sintètics.¹⁰¹ Una combinació d'anàlisi de fluorescència seguida de FT-IR també ha demostrat ser útil en la identificació de mostres de microplàstics. En un dels estudis s'ha demostrat que és necessari tenir en compte que la foto-oxidació de plàstics causada per la

meteorització pot modificar la superfície i pot afectar la intensitat d'emissió influïda pel color dels fragments de plàstic.¹⁰²

3.2.Confirmació de la composició de micro- i nanoplàstics

Els diferents tipus de polímers, formes, colors, fragmentació i degradació de la superfície a causa de la meteorització i additius fan que sigui difícil avaluar i classificar els microplàstics mitjançant procediments de mesura que es basen únicament en mètodes de microscòpia.¹⁰² Per tant, cal aplicar altres mètodes. Tot i que a continuació es descriuen diferents mètodes analítics, el seu rendiment (per exemple, sensibilitat, selectivitat, límits de detecció i quantificació) per a la caracterització de partícules de plàstic encara s'ha d'optimitzar i validar. D'altra banda, cada mètode pot tenir limitacions específiques de mesurament i, per tant, s'haurien d'utilitzar un mínim de dos mètodes quan es desitgi confirmar amb exactitud la presència i la identitat dels microplàstics.¹³

3.2.1.Espectroscopia vibracional

L'espectroscòpia vibracional juntament amb la microscòpia òptica pot proporcionar informació visual i de composició de partícules de plàstic. Tot i així, la senyal obtinguda depèn de la mida de les partícules analitzades, i normalment es requereix que la mostra estigui ben separada.⁵⁶

3.2.1.1.Espectroscopia d'infrarojos per transformada de Fourier (FT-IR)

El fonament de l'espectroscòpia d'infrarojos es basa en l'excitació de les vibracions moleculars al fer passar un feix d'infraroig a través d'una mostra. Aquesta energia vibracional

616 es correspon amb una freqüència de llum IR i ens aporta informació sobre la composició
617 molecular: àtoms, tipus d'enllaços, estructura, etc.¹⁰³ (Figura 7).

618 La tècnica de microscòpia FTIR resulta de l'acoblament entre un microscopi IR i un
619 espectròmetre amb Transformada de Fourier. Això no només ens permet visualitzar la mostra
620 i escollir una regió d'anàlisi, sinó que també ens permet adquirir dades en dues dimensions.¹³

621 Per a l'anàlisi de microplàstics, en FTIR s'utilitzen habitualment tres modes de funcionament
622 diferents: transmissió, reflexió i reflectància total atenuada (ATR). Per poder mantenir les
623 mostres de partícules al seu lloc durant l'exploració és imprescindible disposar d'un substrat
624 adequat. Per a aquest propòsit, el substrat ha de ser resistent a l'aigua, estable mecànicament,
625 tenir porus per permetre la filtració de mostres aquoses i provocar les mínimes interferències
626 espectrals possibles. En mode de transmissió, la llum de la font passa a través de la mostra i es
627 recull després. Com a resultat, es requereix la transparència del substrat per a les partícules de
628 microplàstics que s'han provat. A més, els materials d'alta absorció amb color no són
629 adequats a causa d'una feble llum transmesa al detector. Es poden evitar aquestes limitacions
630 si s'utilitza el mode de reflectància, en el qual el feix incident passa a través de la mostra
631 mitjançant reflexió sobre un substrat reflectant IR. Tot i així, el senyal reflectit sovint és
632 pertorbat pels errors de reflexió causats per la dispersió de la llum i, per tant, depèn de la
633 morfologia de les partícules. En el mode ATR, la mostra es posa en contacte òptic amb un
634 material d'alt índex de refracció, normalment anomenat cristall ATR, i la superfície s'irradia
635 amb una ona evanescent. ATR-FTIR és ràpid i amb una mínima preparació de la mostra.
636 Malauradament, l'element de cristall es pot degradar amb el pas del temps per rascades i
637 esquerdes a la superfície. També cal destacar que el cristall ATR ha de ser cobert per la
638 partícula analitzada, per tant, pot ser que les partícules amb una mida menor que el cristall no
639 puguin produir un espectre desitjable i també pot passar que es produeixi un dany de les
640 partícules.³

641 Els microscopis FTIR tenen resolucions espaials de fins a 5 μm . Tot i que FTIR requereix un
642 espessor mínim de la mostra ($\sim 150\text{ nm}$). Per tant, FTIR es el més adequat per a partícules
643 individuals de més de $\sim 20\text{ }\mu\text{m}$.⁵⁶ Tot i així, els microplàstics amb una longitud màxima <50
644 μm requereixen molts assajos o pot ser difícil obtenir un espectre clar que permeti una
645 acurada identificació.³

646 Entre els 26 estudis reportats, l'ATR i la transmissió són els modes més populars
647 d'espectroscòpia FTIR. En 14 estudis, es compara i s'identifica l'espectre obtingut d'una
648 partícula desconeguda i es fa coincidir amb les dades d'alguna biblioteca de referència
649 d'espectres de polímers. Les diferències entre biblioteques comportarà resultats
650 incomparables. Alguns investigadors no donen detalls sobre com es va realitzar la semblança
651 de la coincidència.

652 Quan els plàstics degradats produeixen espectres que no coincideixen gaire amb els espectres
653 disponibles a les biblioteques, es requereix una decisió experta basada en una inspecció
654 minuciosa de l'espectre. Això pot comportar una decisió arbitrària basada en dades
655 estadístiques.³

656 El segon mètode més adoptat és comparar l'espectre amb la literatura. Tot i així, la majoria
657 d'autors no han indicat els algorismes utilitzats per a la seva comparació, mentre que d'altres
658 demostren que les partícules s'identifiquen a partir dels pics característics dels grups
659 funcionals. Aquestes zones de banda representen vibracions comunes que es produeixen en
660 gairebé tota la matèria orgànica. Aquesta comparació visual té la limitació afegida que
661 requereix molt de temps i mà d'obra.¹⁰³

662 A partir d'aquests estudis més recents, hi poden haver limitacions. En primer lloc, en tots els
663 estudis no consideren que els espectres FTIR que s'obtenen dels diferents modes (per exemple
664 transmissió o ATR) puguin no ser sempre els mateixos, i això no es té en compte a l'hora de
665 comparar els espectres amb la literatura o les biblioteques espectrals.

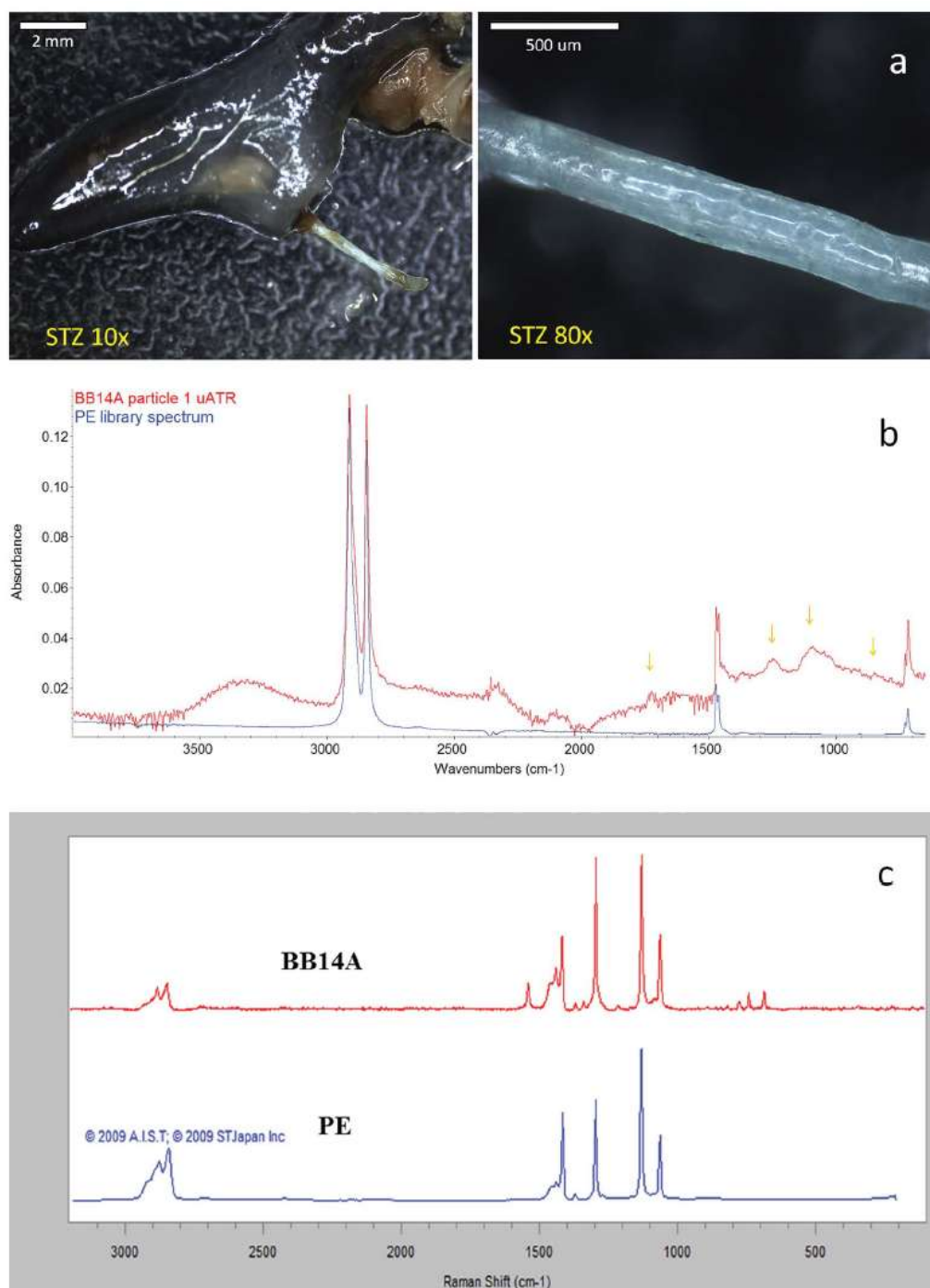
En segon lloc, la majoria d'estudis sobre identificació de microplàstics ignoren el canvi espectral causat per la degradació dels plàstics (degut en molts casos al procés de digestió de la mostra o a processos ambientals) quan es compara amb la biblioteca espectral de referència.

En tercer lloc, atès que s'utilitzen diversos substrats en diferents experiments, és important provar la idoneïtat del seleccionat i qualsevol interferència espectral que es pugui produir. No obstant això, hi han autors que no han proporcionat la informació relacionada amb el tipus de substrat utilitzat.¹⁰³

Es podria millorar alguns d'aquests inconvenients amb el mètode de reflectància basat en la matriu del pla focal (FPA), el qual proporciona informació per a la identificació de microplàstics (150-250 µm) en àrees de superfície més grans, facilitant la generació de varius mils d'espectres en una única mesura i estalviant temps d'anàlisi. Tot i que es redueix significativament el temps d'operació, es requereixen almenys 9 hores per escanejar un paper de filtre. Com a problemes addicionals, els plàstics agregats es poden contar junts i els plàstics de forma irregular poden produir errors de refracció en el mode de reflectància.³

3.2.1.2. Espectroscopia Raman

L'espectroscòpia Raman també s'utilitza per identificar microplàstics. La llum làser incideix sobre un objecte i dona com a resultat diferents freqüències de llum dispersada depenent de l'estructura molecular i els àtoms presents, que produeixen un espectre únic per a cada polímer. L'anàlisi Raman no només identifica plàstics, sinó que també proporciona perfils de la composició polimèrica de cada mostra, similar a FTIR.³ (Figura 7)



687

688 **Figura 7.** Fibra de PE extreta de l'estómac d'un peix mictòfid (peix llanterna) de l'Oceà
 689 Atlàntic. a) Imatge obtinguda amb esteromicroscopi, b) espectre obtingut amb FTIR i c)
 690 espectre obtingut amb Raman. Els espectres de color vermell són els obtinguts en l'anàlisi de
 691 l'estudi, mentre que els espectres de color blau són espectres de biblioteques de referència.
 692 *Anal. Methods.* 2017. 9, 1479-1490. Copyright 2017 Royal Society of Chemistry.⁸⁰

693 Raman s'adapta millor a la fracció dels microplàstics que estan per sota de $\sim 20 \mu\text{m}$.¹⁰⁴ La
694 principal avantatge de la microscòpia Raman és que utilitza la regió de longitud d'ona
695 completa i es pot detectar carboni amorf. Com a resultat, els espectres Raman de
696 microplàstics exposats a la degradació UV no s'alteren significativament.⁵⁶ La resolució
697 espacial de la microscòpia Raman és d'aproximadament $1 \mu\text{m}$, i la forma i el gruix de les
698 partícules no influeix en la mesura.¹⁰⁵ Aquests avantatges fan que la microscòpia Raman sigui
699 una eina potencialment més sensible per identificar microplàstics en comparació amb
700 FTIR.¹⁰⁶ Tot i així, alguns materials emeten fluorescència i emmascaren la informació
701 vibratòria. La senyal Raman està fortament influenciada pels colorants⁵⁶ i les substàncies
702 microbiològiques,¹⁰⁷ orgàniques i inorgàniques.¹⁰⁵

703 En els 3 estudis reportats on s'utilitza Raman, utilitzen una àmplia gamma de longituds d'ona
704 de la font de làser, temps d'exposició i ampliació objectiva. Això, pot donar com a resultat
705 espectres moderadament diferents per un mateix tipus de plàstic.¹⁰³

706 El substrat que s'utilitza per subjectar les partícules durant l'exploració també és diferent per a
707 cada estudi, tot i que alguns treballs no han mencionat la informació del substrat.

708 Els filtres s'utilitzen àmpliament per a l'exploració Raman, especialment per a partícules més
709 petites que no es poden manejar directament amb pinces. Com que l'anàlisi de tot el filtre
710 requereix molt de temps i molta mà d'obra, se sol examinar un subconjunt de l'àrea del filtre,
711 que després dona informació estadística sobre tot el filtre.¹⁰³ Per exemple, en un estudi on van
712 aplicar Raman per a la detecció de microplàstics en aigua mineral embotellada. Després de la
713 preparació de la mostra, les partícules es van analitzar directament a la superfície del filtre de
714 mida de 113 mm^2 . Per reduir el temps d'escaneig de tota la superfície, van escollir cinc punts
715 d' 1 mm^2 per a cada mostra, la qual cosa va suposar una àrea mostral analitzada del 4,4%.
716 Això permet escurçar el temps d'escaneig, però es tradueix en qüestió de representativitat. La
717 pregunta òbvia és: quants punts cal seleccionar per obtenir un resultat estadísticament

718 significatiu i com triar un punt a analitzar per garantir la representativitat? La resposta a
719 aquestes preguntes depèn fortament de la matriu de la mostra i dels procediments per a la
720 preparació de la mostra.¹⁰⁸

721 La presència de la interferència espectral del substrat pot comprometre la capacitat d'extreure
722 informació fiable i reproduïble de la composició de les partícules.¹⁰³

723 En els diferents estudis reportats identifiquen diferents tipus de polímers de microplàstics
724 comparant l'espectre desconegut amb la biblioteca o base de dades espectral de referència.
725 Tot i que en la majoria dels casos, no s'indiquen els algorismes aplicats per a generar la
726 puntuació de coincidència amb els espectres de referència.

727 Un dels estudis desenvolupa un mètode semi-automàtic capaç d'analitzar mostres de volum
728 considerable, utilitzant els mateixos paràmetres analítics per a tots els tipus de partícules. En 3
729 hores és capaç de caracteritzar més de 110 partícules (característiques morfològiques i
730 químiques) utilitzant un únic instrument, i evitant així els problemes de pèrdua o transferència
731 de partícules.¹⁰⁹

732 Una de les limitacions de Raman és que si la mostra presenta impureses com colorants o
733 material biològic, es produeixen senyals dèbils i distorsions espectrals induïdes per la
734 fluorescència. La debilitat de la senyal provoca que s'hagin d'augmentar els temps de mesura,
735 i això pot provocar una degradació de la mostra al estar exposada al làser durant més temps.
736 Per evitar aquests problemes, alguns protocols inclouen passos de neteja basats en digestions
737 àcides, però per altra banda aquests processos poden donar lloc a la destrucció de la mostra i a
738 subestimar les quantificacions de micro- i nanoplàstics.¹¹⁰

739 Un altre dels problemes que es troben els analistes és l'existència de biblioteques espectrals
740 basades únicament en polímers purs i no en plàstics que han estat sotmesos a l'acció del medi

ambient. També seria interessant incloure l'espectre d'altres materials que sovint es confonen amb els plàstics, com poden ser la cel·lulosa, la quitina o les fibres sintètiques.¹¹⁰

3.2.2.Anàlisi tèrmic

Entre les noves tècniques d'identificació i quantificació de fragments de plàstic podem trobar tècniques d'anàlisi tèrmic, en què les propietats fisicoquímiques dels microplàstics estan relacionades amb la seva estabilitat tèrmica i es mesuren en funció del temps o de la temperatura en presència d'un gas inert.^{3,107} Les tècniques d'anàlisi tèrmic realitzades amb cromatografia de gasos i espectrometria de masses (GC-MS) poden analitzar simultàniament additius i microplàstics.³ Evidentment, una limitació d'aquestes tècniques és que són destructives i no proporcionen dades sobre la mida i la forma dels fragments de plàstic examinats i només donen resultats de concentració massiva.^{3,111}

3.2.2.1. Piròlisi acoblada a cromatografia de gasos i espectrometria de masses (Pyr-CG-MS).

La piròlisi acoblada a cromatografia de gasos i espectrometria de masses (Pyr-CG-MS), analitza els productes de degradació dels polímers per obtenir informació sobre les seves estructures. Requereix de l'escalfament de la mostra a altes temperatures d'entre 600-1000°C, descomponent-la en molècules més petites que es separen per cromatografia de gasos i s'analitzen per espectrometria de masses.⁸⁹

La temperatura de la piròlisi, així com la distància que ha de recórrer la mostra entre el pirolitzador i la cambra de ions, són factors fonamentals que influeixen en els productes detectats.⁴⁵

Per generar l'espectre de masses, les molècules volàtils són ionitzades i es fan passar per un camí electromagnètic que filtra els ions en funció de les seves masses. Aquests espectres es comparen amb els espectres de les biblioteques de compostos purs disponibles per identificar la molècula en qüestió.⁴

Pyr-GC-MS permet la introducció directa de partícules sòlides de polímers amb un pretractament mínim de les mostres. En contrast amb ATR-FTIR, un avenç significatiu de Pyr-GC-MS és la capacitat de proporcionar informació detallada sobre la composició química del polímer i els additius orgànics continguts. A més, Pyr-GC-MS no és sensible a la forma, la mida i els contaminants orgànics o inorgànics associats a les partícules analitzades.¹¹² Només es necessita una petita quantitat de mostra (100-500 µg) per a una mesura, cosa que indica que Pyr-GC-MS és aplicable per a l'anàlisi de traces.¹¹³ Tanmateix, amb aquesta tècnica es pot analitzar una partícula per cicle i el temps necessari per a una mesura oscil·la entre 30 i 100 min, cosa que limita inevitablement la seva aplicabilitat per a l'anàlisi de grans quantitats de mostres.¹¹²

La reproductibilitat entre laboratoris del mètode de Pyr-GC-MS és un repte, ja que els resultats depenen bàsicament de la preparació de la mostra, el tipus de piròlisi (piròlisi de filaments, piròlisi de forn i piròlisi del punt de Curie) i la transferència del pirolisat.

Pyr-GC-MS és capaç d'identificar diferents tipus de plàstics de consum, com per exemple: PE, PP, PS, PVC, PET i PC. Tot i així, en alguns casos, és difícil diferenciar entre diferents subtipus de polímers.^{56,114}

En cap dels estudis reportats per mostres biològiques s'utilitza aquest mètode per a la identificació de micro- i nanoplàstics.

3.2.2.2. Desorció tèrmica acoblada a cromatografia de gasos amb espectrometria de masses (TDS-GC-MS).

TDS-GC-MS consisteix en col·locar una mostra en una balança de termogravimetria i escalfar la mostra a temperatures de fins a 1000 °C. Els productes de degradació s'absorbeixen en una fase sòlida que després es transfereix a una unitat de desorció tèrmica. Una vegada s'ha produït la desorció per increment de la temperatura, els productes de degradació es separen en una columna de cromatografia i s'analitzen per espectrometria de masses.^{56,3}

Aquesta tècnica és capaç d'identificar mostres mediambientals de manera ràpida en casos en que la grandària de la mostra no sigui un paràmetre important per a la investigació. En comparació amb Pyr-GC-MS, TDS-GC-MS permet identificar mostres de fins a 100 mg en 2 o 3 hores, però en molts casos es limita a l'anàlisi qualitatiu.¹¹³

Amb el mètode de TDS-GC-MS es van identificar quantitativament el PE addicionat a unes mostres de sediments i musclos. També s'ha identificat una mescla de PP i PS utilitzant aquest mètode.³

3.2.2.3. Calorimetria diferencial d'escaneig (DSC)

La calorimetria diferencial d'escaneig (DSC) és un mètode útil per estudiar les propietats tèrmiques dels materials polimèrics. El mètode requereix de materials de referència per identificar els tipus de polímers, ja que cada producte plàstic té característiques diferents en DSC. El mètode de DSC pot ser útil per identificar microplàstics primaris específics, com microperles de PE, pels quals hi ha materials de referència disponibles.³

L'anàlisi DSC és relativament simple i ràpid, però té limitacions ja que s'han identificat pocs tipus de polímers en mostres ambientals.³

810 En comparació amb els mètodes espectroscòpics, els anàlisis tèrmics són mètodes destructius,
811 només capaços de realitzar caracterització química, però no proporcionen informació
812 detallada sobre la morfologia i la mida de les partícules.^{112,115} En aquest context, es recomana
813 que aquests mètodes serveixin de tècniques complementàries als mètodes espectroscòpics i
814 aconseguir així un anàlisi integral dels microplàstics.⁴

Mètodes de separació	Avantatges	Limitacions
Flotació/Sedimentació	<ul style="list-style-type: none"> - Simple - Econòmica - Separa MPs de la matèria orgànica 	<ul style="list-style-type: none"> - Elecció crítica del tipus de gradient - Reciclatge o eliminació de sals contaminants
Filtració	<ul style="list-style-type: none"> - Simple - Econòmica - Mida del filtre (de 0,5 – 10 µm) - Classifica les partícules per mides 	<ul style="list-style-type: none"> - Obstrucció dels filtres de mida de porus petita - Pèrdua de partícules en filtres de mida de porus gran - Possible contaminació de la mostra en funció del tipus de filtre utilitzat
Extracció amb oli	<ul style="list-style-type: none"> - Apte per a mitjans aquosos - Separa MPs de la matèria inorgànica 	<ul style="list-style-type: none"> - Les partícules han de ser suficientment hidrofòbiques per ser extretes per l'oli - Pèrdues de MPs pel comportament imprevisible de les bombolles
Fluids pressuritzats	<ul style="list-style-type: none"> - Simple - Econòmica - Ràpida 	<ul style="list-style-type: none"> - Utilització de reactius i temperatures elevades que poden danyar els MPs
Dissecció / Criossecció	<ul style="list-style-type: none"> - Apta per a matrius biològiques - Simple - Econòmica - Es recuperen partícules > 500 µm 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevat temps d'inspecció de la mostra - Risc d'ometre partícules - Es necessita observació per microscopi
Digestió de la matriu		
Digestió química àcida	- Apte per a matrius biològiques	- No assegura la total eliminació de matèria orgànica
Digestió química alcalina		- Pot modificar, danyar o destruir MPs
Digestió química oxidativa		
Digestió enzimàtica	<ul style="list-style-type: none"> - Apte per a matrius biològiques - Menys danys als polímers 	<ul style="list-style-type: none"> - Més car - És possible que requereixin més passos al laboratori - Activitat enzimàtica variable segons: matriu, emmagatzematge i origen
Mètodes de detecció / identificació / quantificació		
A simple vista o amb Microscopi	<ul style="list-style-type: none"> - Simple - Ràpida - Econòmica 	<ul style="list-style-type: none"> - No hi ha confirmació química - Possibles fals positius - Possibilitat de perdre partícules de plàstic petites i transparents - No es pot saber la composició dels polímers
SEM (Microscòpia Electrònica d'Escaneig)	<ul style="list-style-type: none"> - Imatges d'alta resolució de la superfície de la mostra (resolució < 5 nm) - Els MPs potencials es poden diferenciar d'altres partícules orgàniques i inorgàniques - Combinada amb EDS (Espectroscòpia Dispersiva de Raigs X) proporciona informació de la composició dels polímers i additius inorgànics 	<ul style="list-style-type: none"> - Requereix molt temps i esforç en la preparació de la mostra
TEM (Microscòpia Electrònica de Transmissió)	<ul style="list-style-type: none"> - Simplificació en la preparació de la mostra en comparació amb SEM - Identificació de partícules de fins a 12 nm 	<ul style="list-style-type: none"> - Limitada identificació de nanopartícules a causa de la seva estructura amorfa.
Fluorescència amb tinció de Vermell de Nile	<ul style="list-style-type: none"> - Detecció i quantificació de MPs de 20 µm a 1 mm - Baix cost - Es pot semi-automatitzar 	<ul style="list-style-type: none"> - La tinció de restes de MO amb Vermell de Nile pot donar una sobreestimació de resultats.
Micro-FTIR espectroscòpia	<ul style="list-style-type: none"> - Detecció selectiva i reproducible - Requereix quantitats petites de mostra - Requereix una preparació limitada de la mostra - Anàlisi no destructiu - No possibilitat de fals positiu per confirmació química de totes les partícules plàstiques - Detecció de MPs > 20 µm - Permet quantificar el nombre de partícules - Mapeig automàtic (FPA-reflectància) 	<ul style="list-style-type: none"> - Instrument car - Requereix molt de temps i ma d'obra en la identificació de partícules - Anàlisi de contacte (ATR) que pot destruir la mostra
Micro-Raman espectroscòpia	<ul style="list-style-type: none"> - Detecció selectiva i reproducible - Requereix quantitats petites de mostra - Requereix una preparació limitada de la mostra - Anàlisi no destructiu - No possibilitat de fals positiu per confirmació química de totes les partícules plàstiques - Detecció de MPs < 20 µm - Permet quantificar el nombre de partícules - Anàlisi sense contacte 	<ul style="list-style-type: none"> - Instrument car - Requereix molt de temps i ma d'obra en la identificació de partícules - Interferències per pigments - La fluorescència de les mostres pot emascarar la senyal Raman - Les mostres poden danyar-se per una exposició al làser perllongada
Anàlisis tèrmics		
TDS-GC-MS (Desorció tèrmica acoblada a cromatografia de gasos i espectrometria de masses)	<ul style="list-style-type: none"> - Ràpid i simple - Permet treball amb mostres grans de fins a 100 mg - Adequat per nanoplàstics 	<ul style="list-style-type: none"> - Anàlisi destructiu - En molts casos es limita a anàlisi qualitatiu
DSC (Calorimetria Diferència d'Escaneig)	<ul style="list-style-type: none"> - Ràpid i simple - Identifica polímers utilitzant materials de referència 	<ul style="list-style-type: none"> - Anàlisi destructiu - Es poden identificar pocs polímers
Py-GC-MS (Piròlisi acoblada a cromatografia de gasos i espectrometria de masses)	<ul style="list-style-type: none"> - Requereix quantitats petites de mostra - Requereix una preparació limitada de la mostra - Anàlisi simultani de tipus de polímers i additius químics - Adequat per nanoplàstics 	<ul style="list-style-type: none"> - Anàlisi destructiu - Dades complexes i per tant es necessita un manipulador expert - Requereix temps en la identificació de partícules

Taula 3. Avantatges i limitacions dels mètodes per a la separació de la mostra i identificació dels microplàstics (MPs)

4. CONTROL DE QUALITAT

A l'hora de realitzar programes de control de micro- i nanoplàstics, és fonamental i de vital importància prendre rigoroses mesures d'assegurament i control de la qualitat durant tot el procés analític.⁴

El baix nombre de partícules en les mostres analitzades fa que la presència d'aquestes micropartícules a l'entorn circumdant siguin una problemàtica. Hi ha un clar risc de sobreestimar les càrregues de microplàstics en les mostres, donant lloc a resultats poc robustos.²³

A partir dels estudis revisats, s'avalua l'ambient extern i la prevenció de la contaminació respecte a diferents paràmetres com són: l'operador, l'entorn de treball, els procediments de neteja, la preparació de solucions, el control de blancs i la seva gestió.

4.1. Contaminació de l'operador

Pel que fa a la prevenció de la contaminació per part de l'operador, en la major part dels estudis s'informa de la utilització de bates de cotó i l'ús de guants, ja que els dits dels operadors poden portar partícules de plàstic.²³ (Figura 8B).

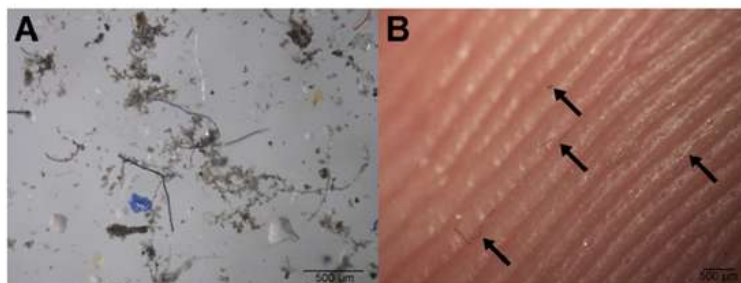


Figura 8. Micropartícules i microplàstics potencials aïllats (A) d'una reixa de ventilació de laboratori i (B) de la superfície del dit de l'operador on s'assenyalen les fibres per fletxes.

TrAC - Trends Anal. Chem. 2019. 116, 346-359. Copyright 2019 Elsevier.²³

4.2. Contaminació de l'entorn de treball

Tenint en compte l'entorn de treball, els procediments de neteja estan més o menys ben descrits a les publicacions. Aquests procediments són diversos, però normalment es realitzen mitjançant l'esbandit amb líquids, com són: l'aigua (d'aixeta, desionitzada, depurada, ultrapura, MilliQ), l'alcohol (no definit o etanol) i la acetona. En la majoria de procediments s'utilitza una combinació de solucions o tres passos successius d'esbandit. En algun estudi, es procedeix a la neteja amb control sota un estereomicroscopi.

També s'ha de considerar el lloc on es fa la manipulació de les mostres per evitar la contaminació amb microplàstics (Figura 8A). Es recomana que per garantir la mínima contaminació possible, els investigadors han de processar les mostres sota una campana de flux laminar, una campana de fums, una zona amb control de pas restringit o fins i tot dins d'una incubadora infantil.²³ (Figura 9).

4.3. Contaminació de les solucions i material utilitzats

La filtració de les solucions, així com el control estereomicroscopi dels filtres usats, és un paràmetre essencial per als estudis de microplàstics.²³ Tot i així, la filtració de les solucions utilitzades no s'acostuma a mencionar a les publicacions.

Hi ha una veritable necessitat d'un estàndard "lliure de microplàstics" en quant a una àmplia gamma de materials utilitzats per als estudis amb partícules plàstics, com serien: solucions, filtres, guants, etc. Malauradament, l'adquisició d'aquests materials lliures de microplàstics als proveïdors de laboratori, segurament serien més cars en comparació amb els preus dels materials convencionals, però clarament oferirien avantatges més eficients.²³

4.4. Controls de contaminació

La contaminació de fons (per exemple, les fibres transportades per l'aire) pot causar una sobreestimació considerable dels resultats quantitatius de les mostres analitzades.¹¹⁶ Per comprovar la contaminació de fons, s'han de realitzar una sèrie de controls en blanc durant el procés de mostreig i la manipulació en el laboratori.²³

En els estudis es poden utilitzar diferents tipus de controls de blancs: control processal (controls que segueixen el mateix procés que els que s'utilitzen per a les mostres), control de l'atmosfera (control de la possible contaminació de l'aire de l'ambient) i control d'observació (control específic de l'aire durant l'aïllament de microplàstics en mostres o filtres). Algunes publicacions també proposen nous controls, és a dir, controls positius o negatius. Els controls positius tenen com a objectiu comprovar si el plàstic present en mostres es recupera amb precisió durant el procés d'aïllament, mentre que els controls negatius són més difícils d'implementar, ja que no existeix cap matriu lliure de microplàstics.²³ El nombre de controls reportats en els diferents estudis és variable, i no hi ha una declaració clara sobre el nombre adequat de controls a realitzar. Algunes publicacions suggereixen aplicar controls a cada lot de mostres analitzades, cosa que podria ser recomanable per a la futura normalització.²³

Si ens fixem en la comunicació dels resultats dels controls de blancs, algunes estratègies no són satisfactòries, ja que les partícules es resten sense tenir en compte els seus colors o formes, o es resta la mitjana de particulars comptades en controls.

Actualment, la metodologia més avançada consisteix a restar els recomptes de control, tenint en compte la forma, el color i la naturalesa de les partícules. Aquesta idea també es pot combinar amb altres enfocaments on es destaca la mida del control i la superfície de contacte.⁹⁰ Això ajudaria a comparar controls i mostres si la superfície exposada no és la mateixa. Finalment, també es podria tenir en compte el temps d'exposició, ja que els controls no sempre estan en contacte amb l'atmosfera durant un període equivalent al de les mostres.²³



Figura 9. Representació de les precaucions bàsiques per evitar la contaminació de mostres en l'anàlisi de microplàstics. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 2019. 116, 346-359. Copyright 2019 Elsevier.²³

5. MÈTODES RECOMANATS

A partir dels mètodes analítics descrits en aquest treball, es proposen algunes recomanacions sobre el mostreig, l'aïllament i la identificació de microplàstics que s'ha comprovat que poden ser adequats per normalitzar les pràctiques de treball entre els diferents laboratoris.

Per a l'aïllament de partícules, s'ha de preferir la digestió química ja que assegura una bona recuperació de partícules petites. Segons els autors, el mètode amb un 10% de KOH a 60 °C durant 24 hores és el que dona millors resultats, ja que aquesta solució és més estable amb el temps en comparació amb el 30% de H₂O₂. L'ús d'enzims també ofereix bons resultats, ja que no només pot digerir eficaçment la matèria orgànica que interfereix, sinó que no perjudicarà els microplàstics.

Per a la identificació i quantificació de micro- i nanoplàstics, les dues característiques clau en l'anàlisi són les característiques físiques (mida, forma i color) i químiques (tipus de polímer). Com que és difícil obtenir els dos tipus de característiques mitjançant una sola eina analítica, és recomanable aplicar la combinació de diversos mètodes. La mida mínima de tall dels microplàstics és un factor crític a tenir en compte a l'hora de seleccionar el mètode

d'identificació. El microscopi és una eina essencial per mesurar les característiques físiques dels materials. Quan es tracta de microplàstics de mida superior a 1mm, el microscopi es pot fer servir per si sol per analitzar les característiques físiques i per identificar els plàstics. Però quan la mida de les partícules és inferior a 1 mm, l'anàlisi amb microscopi s'ha de combinar amb alguns anàlisis químics com són els anàlisis espectroscòpics o anàlisis tèrmics. En quant a la facilitat de maneig, el temps analític i el nombre de polímers a analitzar, l'espectroscòpia μ -ATR-FTIR és actualment el mètode recomanat per a anàlisis rutinaris de mostres ambientals. Si la talla mínima és de pocs microns o inferior a 20 nm, s'ha d'utilitzar l'espectroscòpia Raman per obtenir millors espectres.

L'anàlisi tèrmic i l'espectroscòpia de mapeig automatitzat (per exemple, FPA-FTIR) podrien ser adequats per a mostres experimentals de laboratori de diferents tipus de polímers coneguts. Tot i que presenta alguns avantatges sobre l'espectroscòpia μ -ATR-FTIR i Raman, encara es poden perdre petites partícules de microplàstics o perdre informació en mostres ambientals complexes amb diversos tipus de polímers resistents. Actualment, aquests mètodes no s'utilitzen per a estudis de control rutinari.

6. PERSPECTIVES DE FUTUR

La combinació de mètodes analítics ajuda a identificar microplàstics en matrius ambientals complexes. Existeixen mètodes fiables per identificar microplàstics a escala del mil·límetre. Tot i així, a mesura que disminueix la mida dels microplàstics, es requereix més temps per identificar-los. Però per avaluar els riscos dels impactes ecològics i sobre la salut humana, cal realitzar anàlisis de la mida del submicró.

L'augment de la demanda del control de la contaminació per microplàstics requereix la millora dels mètodes existents i l'elaboració de metodologies noves per reduir el temps i

l'esforç d'identificació. Tanmateix, és important desenvolupar mètodes d'identificació pràctics i fiables per detectar i quantificar els nanoplàstics en mostres ambientals. Els mètodes analítics semi o totalment automatitzats que incorporen mètodes d'anàlisi d'imatges per obtenir les característiques físiques i l'anàlisi químic per identificar els plàstics, ofereixen una possible perspectiva de futur per a la identificació dels micro- i nanoplàstics.

CONTINGUT ASSOCIAT

Informació de suport. Conté la següent informació:

Taula 1. Comparació dels mètodes analítics utilitzats en 22 estudis revisats.

Taula 2. Recompte del nombre de mostres per elaborar els diagrames de sectors del gràfic 1 que fan referència als 22 estudis revisats.

INFORMACIÓ DE L'AUTORA

*E-mail: martarf13@gmail.com

AGRAÏMENTS

L'autora voldria agrair a la Universitat de Barcelona per les facilitats a l'accés a les bases de dades i a tota la documentació científica proporcionada. També voldria agrair tant al tutor com als professors de l'assignatura del Treball Final de Grau per l'orientació rebuda durant la realització del treball.

REFERÈNCIES

1. Geyer, R., Jambeck, J. R. & Law, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci. Adv.* **2017**, 3, 25-29.
2. EFSA, 2016. Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA J.* **2016** 14 (6). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4501>
3. Shim, W. J., Hong, S. H. & Eo, S. E. Identification methods in microplastic analysis: A review. *Anal. Methods.* **2017**, 9, 1384-1391.
4. Wang, W. & Wang, J. Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2018**, 108, 195-202.
5. Rocha-Santos, T. & Duarte, A. C. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2015** 65, 47-53 .
6. Hartmann, N. I. B.; Nolte, T.; Sørensen, M. A.; Jensen, P. R.; Baun, A . Aquatic ecotoxicity testing of nanoplastics: lessons learned from nanoecotoxicology. *ASLO Aquatic Sciences Meeting* **2015**, 2015.
7. Browne, M. A., Galloway, T. & Thompson, R. Microplastic-an emerging contaminant of potential concern? *Integr. Environ. Assess. Manag.* **2007**, 3, 559-561.
8. Ryan, P. G., Moore, C. J., Van Franeker, J. A. & Moloney, C. L. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **2009**, 364, 1999–2012.
9. European Comision. Plastic Waste: Ecological and Human Health Impacts. **2011**. https://ec.europa.eu/environment/integration/research/newsalert/pdf/IR1_en.pdf

- 973 10. Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M. B. & Janssen, C. R. New
974 techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected
975 organisms. *Mar. Pollut. Bull.* **2013**, 70, 227-233 .
- 976 11. Desforges, J. P. W., Galbraith, M., Dangerfield, N. & Ross, P. S. Widespread
977 distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Mar.*
978 *Pollut. Bull.* **2014**, 79, 94-99.
- 979 12. da Costa, J. P., Santos, P. S. M., Duarte, A. C. & Rocha-Santos, T. (Nano)plastics in
980 the environment - Sources, fates and effects. *Sci. Total Environ.* **2016**, 566-567, 15-26 .
- 981 13. Toussaint, B. *et al.* Review of micro- and nanoplastic contamination in the food chain.
982 *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **2019**, 36, 639-
983 673 .
- 984 14. Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I. & Canning-Clode, J. Microplastics as
985 vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar. Coast.*
986 *Shelf Sci.* **2016**, 178, 189-195 .
- 987 15. Camacho, M. *et al.* Organic pollutants in marine plastic debris from Canary Islands
988 beaches. *Sci. Total Environ.* **2019**, 662, 22-31 .
- 989 16. Li, J., Zhang, K. & Zhang, H. Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environ.*
990 *Pollut.* **2018**, 237, 460-467 .
- 991 17. De-La-Torre, G. E. Microplastics: an emerging threat to food security and human
992 health. *J. Food Sci. Technol.* **2019**, 1-8.
- 993 18. Sussarellu, R. *et al.* Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene
994 microplastics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**. 113, 2430-2435 .
- 995 19. Li, J., Liu, H. & Paul Chen, J. Microplastics in freshwater systems: A review on

- 996 occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water Res.*
 997 **2018**, 137, 362-374 .
- 998 20. Yousefi, N., Wargenau, A. & Tufenkji, N. Toward More Free-Floating Model Cell
 999 Membranes: Method Development and Application to Their Interaction with
 1000 Nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. **2016**, 8, 14339-14348 .
- 1001 21. Karapanagioti, H. K. & Takada, H. Hazardous Chemicals Associated with Plastics in
 1002 the Marine Environment. *The Handbook of Environmental Chemistry (Springer*
 1003 *Nature*. 2018). **2018**.
- 1004 22. European chemicals agency: the problem with microplastics. *ECHA*. **2019**.
 1005 <https://echa.europa.eu/hot-topics/microplastics>
- 1006 23. Dehaut, A., Hermabessiere, L. & Duflos, G. Current frontiers and recommendations for
 1007 the study of microplastics in seafood. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2019**, 116, 346-359.
- 1008 24. ICES. ICES Special Request Advice Northeast Atlantic Ecoregion. **2016**
 1009 [https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Advice/2015/Special_Requests/](https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Advice/2015/Special_Requests/OSPAR_PLAST_advice.pdf)
 1010 [OSPAR_PLAST_advice.pdf](https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Advice/2015/Special_Requests/OSPAR_PLAST_advice.pdf)
- 1011 25. Kunz, A., Walther, B. A., Löwemark, L. & Lee, Y. C. Distribution and quantity of
 1012 microplastic on sandy beaches along the northern coast of Taiwan. *Mar. Pollut. Bull.*
 1013 **2016**, 111, 126-135 .
- 1014 26. Prata, J. C., da Costa, J. P., Duarte, A. C. & Rocha-Santos, T. Methods for sampling
 1015 and detection of microplastics in water and sediment: A critical review. *TrAC - Trend.*
 1016 *Anal. Chem.* **2019**, 110, 150-159 .
- 1017 27. Kanhai, L. D. K. *et al.* Microplastics in sub-surface waters of the Arctic Central Basin.
 1018 *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 130, 8-18 .

- 1019 28. Simon, M., van Alst, N. & Vollertsen, J. Quantification of microplastic mass and
1020 removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based
1021 Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water Res.* **2018**, 142, 1-9 .
- 1022 29. Bannick, C. G. *et al.* Development and testing of a fractionated filtration for sampling
1023 of microplastics in water. *Water Res.* **2019**, 149, 650-658.
- 1024 30. Qiu, Q. *et al.* Extraction, enumeration and identification methods for monitoring
1025 microplastics in the environment. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **2016**, 176, 102-109 .
- 1026 31. Song, Y. K. *et al.* A comparison of microscopic and spectroscopic identification
1027 methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Mar. Pollut. Bull.*
1028 **2015**, 93, 202-209.
- 1029 32. Cho, Y., Shim, J., Jang, M., Han, M. & Hong, S. H. Abundance and characteristics of
1030 microplastics in market bivalves from South Korea. *Environ Pollut.* **2018**, 245:1107–
1031 1116 .
- 1032 33. DING, J. F. *et al.* Separation and Identification of Microplastics in Digestive System of
1033 Bivalves. *Chinese J. Anal. Chem.* 2018, 46, 690-697 .
- 1034 34. Lise, I. *et al.* *Mytilus* spp. as sentinels for monitoring microplastic pollution in
1035 Norwegian coastal waters: A qualitative and quantitative study. *Environ. Pollut.* **2018**,
1036 243, 383-393.
- 1037 35. Cole, M. *et al.* Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine
1038 organisms. *Sci. Rep.* **2014**, 4, 1-8 .
- 1039 36. Wright, S. L., Rowe, D., Thompson, R. C. & Galloway, T. S. Microplastic ingestion
1040 decreases energy reserves in marine worms. *Curr. Biol.* **2013**, 23.23: R1031-R1033.
- 1041 37. Bessa, F. *et al.* Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine

- 1042 environment. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 128: 575-584.
- 1043 38. Budimir, S., Setälä, O. & Lehtiniemi, M. Effective and easy to use extraction method
1044 shows low numbers of microplastics in offshore planktivorous fish from the northern
1045 Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 127, 586-592.
- 1046 39. Halstead, J. E., Smith, J. A., Carter, E. A., Lay, P. A. & Johnston, E. L. Assessment
1047 tools for microplastics and natural fibres ingested by fish in an urbanised estuary.
1048 *Environ. pollut.* **2018**, 234: 552-561.
- 1049 40. Digka, N., Tsangaris, C., Torre, M., Anastasopoulou, A. & Zeri, C. Microplastics in
1050 mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Mar. Pollut. Bul.* **2018**, 135, 30-40.
- 1051 41. Ghosal, S., Chen, M., Wagner, J., Wang, Z.-M. & Wall, S. Molecular identification of
1052 polymers and anthropogenic particles extracted from oceanic water and fish stomach e
1053 A Raman micro-spectroscopy study. *Environ. pollut.* **2018**, 233, 1113-1124.
- 1054 42. Lusher, A. L., Welden, N. A., Sobral, P. & Cole, M. Sampling, isolating and
1055 identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Anal. Methods.* **2017**, 9,
1056 1346-1360.
- 1057 43. Bessa, F. *et al.* Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine
1058 environment. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 128: 575-584.
- 1059 44. Zhang, J., Tian, K., Lei, C. & Min, S. Identification and quantification of microplastics
1060 in table sea salts using micro-NIR imaging methods. *Anal. Methods.* **2018**, 10, 2881-
1061 2887 .
- 1062 45. Fischer, M. & Scholz-Böttcher, B. M. Microplastics analysis in environmental
1063 samples-recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method
1064 improvements to increase the reliability of mass-related data. *Anal. Methods.* **2019**, 11,

1065 2489-2497.

1066 46. Kosuth, M., Mason, S. A. & Wattenberg, E. V. Anthropogenic contamination of tap
1067 water, beer, and sea salt. *PloS one*, **2018**, 13.4.

1068 47. Liebezeit, G. & Liebezeit, E. Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Addit.*
1069 *Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **2013**, 30, 2136-2140.

1070 48. Hernandez, L. M. *et al.* Plastic teabags release billions of microparticles and
1071 nanoparticles into tea. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, 53.21: 12300-12310.

1072 49. Foekema, E. M. *et al.* Plastic in North Sea Fish. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, 47.15:
1073 8818-8824.

1074 50. Dehaut, A. *et al.* Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and
1075 characterization. *Environ. Pollut.* **2016**, 215: 223-233.

1076 51. Besley, Aiken, *et al.* A standardized method for sampling and extraction methods for
1077 quantifying microplastics in beach sand. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, 114.1: 77-83.

1078 52. Caron, A. G. M. *et al.* Validation of an optimised protocol for quantification of
1079 microplastics in heterogenous samples: A case study using green turtle chyme.
1080 *MethodsX.* **2018**, 5: 812-823.

1081 53. Quinn, B., Murphy, F. & Ewins, C. Validation of density separation for the rapid
1082 recovery of microplastics from sediment. *Anal. Methods.* **2017**, 9, 1491-1498.

1083 54. Fries, E. *et al.* Identification of polymer types and additives in marine microplastic
1084 particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *MethodsX.* **2018**,
1085 5: 812-823.

1086 55. Hanvey, J. S. *et al.* A review of analytical techniques for quantifying microplastics in
1087 sediments. *Anal. Methods.* **2017**, 9, 1369-1383.

- 1088 56. Nguyen, B. *et al.* Separation and Analysis of Microplastics and Nanoplastics in
1089 Complex Environmental Samples. *Acc. Chem. Res.* **2019**, 52, 858-866.
- 1090 57. Thiele, C. J., Hudson, M. D. & Russell, A. E. Evaluation of existing methods to extract
1091 microplastics from bivalve tissue: Adapted KOH digestion protocol improves filtration
1092 at single-digit pore size. *Mar. Pollut. Bull.* **2019**, 142, 384-393.
- 1093 58. Thermo Scientific Nalgene. *Chemical compatibility guide*. **2018**.
1094 [http://tools.thermofisher.com/content/sfs/posters/LCD-Chemical-Resistance-Guide-](http://tools.thermofisher.com/content/sfs/posters/LCD-Chemical-Resistance-Guide-GALSPCHEMRESPOSTER-EN.pdf)
1095 [GALSPCHEMRESPOSTER-EN.pdf](http://tools.thermofisher.com/content/sfs/posters/LCD-Chemical-Resistance-Guide-GALSPCHEMRESPOSTER-EN.pdf)
- 1096 59. Herrera, A. *et al.* Novel methodology to isolate microplastics from vegetal-rich
1097 samples. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 129, 61-69.
- 1098 60. Zobkov, M. B. & Esiukova, E. E. Microplastics in a Marine Environment: Review of
1099 Methods for Sampling, Processing, and Analyzing Microplastics in Water, Bottom
1100 Sediments, and Coastal Deposits. *Orig. Russ. Text* © M.B. Zobkov, E.E. Esiukova.
1101 **2018**, 58, 149-157.
- 1102 61. Su, L. *et al.* Using the Asian clam as an indicator of microplastic pollution in
1103 freshwater ecosystems. *Environ. Pollut.* **2018**, 234, 347-355.
- 1104 62. Wang, W., Ndungu, A. W., Li, Z. & Wang, J. Microplastics pollution in inland
1105 freshwaters of China: A case study in urban surface waters of Wuhan, China. *Sci. Total*
1106 *Environ.* **2017**, 575, 1369-1374.
- 1107 63. Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C. & Thiel, M. Microplastics in the marine
1108 environment: A review of the methods used for identification and quantification.
1109 *Environ. Sci. Technol.* **2012**, 46, 3060-3075.
- 1110 64. Mintenig, S. M., B  uerlein, P. S., Koelmans, A. A., Dekker, S. C. & Van Wezel, A. P.

- 1111 Closing the gap between small and smaller: towards a framework to analyse nano- and
1112 microplastics in aqueous environmental samples. *Environ. Sci. Nano.* **2018**, 5, 1640-
1113 1649.
- 1114 65. Crichton, E. M., Noël, M., Gies, E. A. & Ross, P. S. A novel, density-independent and
1115 FTIR-compatible approach for the rapid extraction of microplastics from aquatic
1116 sediments. *Anal. Methods.* **2017**, 9, 1419-1428.
- 1117 66. Grbic, J. *et al.* Magnetic Extraction of Microplastics from Environmental Samples.
1118 *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2019**, 6.2: 68-72.
- 1119 67. Fuller, S. & Gautam, A. A Procedure for Measuring Microplastics using Pressurized
1120 Fluid Extraction. *Environ. Sci. Technol.* **2016**, 50.11: 5774-5780.
- 1121 68. Leslie, H. A., Brandsma, S. H., van Velzen, M. J. M. & Vethaak, A. D. Microplastics
1122 en route: Field measurements in the Dutch river delta and Amsterdam canals,
1123 wastewater treatment plants, North Sea sediments and biota. *Environ. Int.* **2017**, 101,
1124 133-142.
- 1125 69. Bellas, J., Martínez-Armental, J., Martínez-Cámara, A., Besada, V. & Martínez-
1126 Gómez, C. Ingestion of microplastics by demersal fish from the Spanish Atlantic and
1127 Mediterranean coasts. *Mar. pollut. bull.* **2016**, 109.1: 55-60.
- 1128 70. Nadal, M. A., Alomar, C. & Deudero, S. High levels of microplastic ingestion by the
1129 semipelagic fish bogue Boops boops (L.) around the Balearic Islands. *Environ. Pollut*
1130 **2016**, 214, 517-523.
- 1131 71. Alomar, C. *et al.* Microplastic ingestion by *Mullus surmuletus* Linnaeus, 1758 fish and
1132 its potential for causing oxidative stress. *Environ. Res.* **2017**, 159, 135-142.
- 1133 72. Collard, F. *et al.* Microplastics in livers of European anchovies (*Engraulis encrasicolus*,

- 1134 L.). *Environ. Pollut.* **2017**, 229, 1000-1005.
- 1135 73. ICES. *ICES Special Request Advice Northeast Atlantic Ecoregion.* **2016**
 1136 [https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Advice/2015/Special_Requests/](https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Advice/2015/Special_Requests/OSPAR_PLAST_advice.pdf)
 1137 [OSPAR_PLAST_advice.pdf](https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Advice/2015/Special_Requests/OSPAR_PLAST_advice.pdf)
- 1138 74. Naidoo, T., Goordiyal, K. & Glassom, D. Are Nitric Acid (HNO₃) Digestions Efficient
 1139 in Isolating Microplastics from Juvenile Fish? *Water Air Soil Pollut.* **2017**, 228, 470.
- 1140 75. Catarino, A. I., Thompson, R., Sanderson, W. & Henry, T. B. Development and
 1141 optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme
 1142 digestion of soft tissues. *Environ. Toxicol. Chem.* **2017**, 36, 947-951.
- 1143 76. Karlsson, T. M. *et al.* Screening for microplastics in sediment, water, marine
 1144 invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation. *Mar.*
 1145 *Pollut. Bull.* **2017**, 122.1-2: 403-408.
- 1146 77. Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K. & Mayes, A. G. A rapid-screening
 1147 approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile
 1148 Red. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 1-10.
- 1149 78. Karami, A. *et al.* A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish.
 1150 *Sci. Total Environ.* **2017**, 578, 485-494.
- 1151 79. Enders, K. *et al.* Extraction of microplastic from biota: recommended acidic digestion
 1152 destroys common plastic polymers. *ICES J. Mar. Sci.* **2017**, 74.1: 326-331.
- 1153 80. Wagner, J. *et al.* Novel method for the extraction and identification of microplastics in
 1154 ocean trawl and fish gut matrices. *Anal. Methods.* **2017**, 9, 1479-1490.
- 1155 81. Kühn, S. *et al.* The use of potassium hydroxide (KOH) solution as a suitable approach
 1156 to isolate plastics ingested by marine organisms. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, 115, 86-90.

- 1157 82. Munno, K., Helm, P. A., Jackson, D. A., Rochman, C. & Sims, A. Impacts of
1158 temperature and selected chemical digestion methods on microplastic particles.
1159 *Environ. Toxicol. Chem.* **2018**, 37, 91-98.
- 1160 83. Roch, S. & Brinker, A. Rapid and Efficient Method for the Detection of Microplastic in
1161 the Gastrointestinal Tract of Fishes. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 4522-4530.
- 1162 84. Li, J. *et al.* Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environ. Pollut.*
1163 **2016**, 214: 177-184.
- 1164 85. Li, J., Green, C., Reynolds, A., Shi, H. & Rotchell, J. M. Microplastics in mussels
1165 sampled from coastal waters and supermarkets in the United Kingdom. *Environ. Pollut.*
1166 **2018**, 241, 35-44.
- 1167 86. Jabeen, K. *et al.* Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of
1168 China. *Environ. Pollut.* **2017**, 221, 141-149.
- 1169 87. Collard, F. *et al.* Morphology of the filtration apparatus of three planktivorous fishes
1170 and relation with ingested anthropogenic particles. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, 116, 182-
1171 191.
- 1172 88. Correia, M. & Loeschner, K. Detection of nanoplastics in food by asymmetric flow
1173 field-flow fractionation coupled to multi-angle light scattering: possibilities, challenges
1174 and analytical limitations. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410, 5603-5615.
- 1175 89. Fischer, M. & Scholz-Bö, B. M. Simultaneous Trace Identification and Quantification
1176 of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas
1177 Chromatography–Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 9, 5052-5060.
- 1178 90. Courtene-Jones, W., Quinn, B., Murphy, F., Gary, S. F. & Narayanaswamy, B. E.
1179 Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods

- for the analysis of ingested microplastics. *Anal. Methods*. **2017**, 9, 1437-1445.
91. Arta Simon, M., Van Alst, N. & Vollertsen, J. Quantification of microplastic mass and removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water Res.* **2018**, 142: 1-9.
92. Löder, M. G. J. *et al.* Enzymatic Purification of Microplastics in Environmental Samples. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 14283-14292.
93. Renner, G., Schmidt, T. C. & Schram, J. Analytical methodologies for monitoring micro(nano)plastics: Which are fit for purpose? *Curr. Opin. Environ. Sci. Heal.* **2018**, 1, 55-61.
94. Silva, A. B. *et al.* Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review. *Anal. Chim. Acta.* **2018**, 1017, 1-19.
95. Gniadek, M. & Dąbrowska, A. The marine nano-and microplastics characterisation by SEM-EDX: The potential of the method in comparison with various physical and chemical approaches. *Mar. Pollut. Bull.* **2019**, 148: 210-216.
96. Wang, Z.-M., Wagner, J., Ghosal, S., Bedi, G. & Wall, S. SEM/EDS and optical microscopy analyses of microplastics in ocean trawl and fish guts. *Sci. Total Environ.* **2017**, 603: 616-626.
97. Li, Chaoran, Rosa Busquets, and Luiza C. Campos. "Assessment of microplastics in freshwater systems: a review." *Sci. Total Environ.* **(2019)**: 135578.
98. Gigault, J., Pedrono, B., Maxit, B. & Ter Halle, A. Marine plastic litter: The unanalyzed nano-fraction. *Environ. Sci. Nano.* **2016**, 3, 346-350.
99. Zhang, T. R. *et al.* Uptake and Translocation of Styrene Maleic Anhydride Nanoparticles in *Murraya exotica* Plants by Noninvasive, Real-Time Optical

- 1203 Bioimaging. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, 53, 1471-1481.
- 1204 100. Lambert, S. & Wagner, M. Characterisation of nanoplastics during the degradation of
1205 polystyrene. *Chemosphere.* **2016**, 145, 265-268.
- 1206 101. Erni-Cassola, G., Gibson, M. I., Thompson, R. C. & Christie-Oleza, J. A. Lost, but
1207 Found with Nile Red: A Novel Method for Detecting and Quantifying Small
1208 Microplastics (1 mm to 20 μ m) in Environmental Samples. *Environ. Sci. Technol.*
1209 **2017**, 51, 13641-13648.
- 1210 102. Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H. & Jang, M. Identification and quantification of
1211 microplastics using Nile Red staining. *Mar. Pollut. Bull.* **2016**, 113, 469-476.
- 1212 103. Xu, J. L., Thomas, K. V., Luo, Z. & Gowen, A. A. FTIR and Raman imaging for
1213 microplastics analysis: State of the art, challenges and prospects. *TrAC - Trends Anal.*
1214 *Chem.* **2019**, 119, 115629.
- 1215 104. Ribeiro-Claro, P., Nolasco, M. M. & Araújo, C. Characterization of Microplastics by
1216 Raman Spectroscopy. *Compr. Anal. Chem.* **2017**, 75, 119-151.
- 1217 105. Elert, A. M. *et al.* Comparison of different methods for MP detection: What can we
1218 learn from them, and why asking the right question before measurements matters?
1219 *Environ. Pollut.* **2017**, 231, 1256-1264.
- 1220 106. Cabernard, L., Roscher, L., Lorenz, C., Gerds, G. & Primpke, S. Comparison of
1221 Raman and Fourier Transform Infrared Spectroscopy for the Quantification of
1222 Microplastics in the Aquatic Environment. *Environ. Sci. Technol.* **2018**, 52, 13279-
1223 13288.
- 1224 107. K  ppler, A. *et al.* Analysis of environmental microplastics by vibrational
1225 microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, 408, 83778391.

- 1226 108. Oßmann, B. E. *et al.* Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled
1227 mineral water. *Water Res.* **2018**, 141, 307-316.
- 1228 109. Frère, L. *et al.* A semi-automated Raman micro-spectroscopy method for
1229 morphological and chemical characterizations of microplastic litter. *Mar. Pollut. Bull.*
1230 **2016**, 113, 461-468.
- 1231 110. Araujo, C. F., Nolasco, M. M., Ribeiro, A. M. P. & Ribeiro-Claro, P. J. A.
1232 Identification of microplastics using Raman spectroscopy: Latest developments and
1233 future prospects. *Water Res.* **2018**, 142, 426-440.
- 1234 111. Käßler, A. *et al.* Analysis of environmental microplastics by vibrational
1235 microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, 408, 8377-
1236 8391.
- 1237 112. Käßler, A. *et al.* Käßler2018_Article_ComparisonOfM-ATR-FTIRSpectros.pdf.
1238 *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 5313-5327.
- 1239 113. Dümichen, E. *et al.* Fast identification of microplastics in complex environmental
1240 samples by a thermal degradation method. *Chemosphere.* **2017**, 174, 572-584.
- 1241 114. Hermabessiere, L. *et al.* Optimization, performance, and application of a pyrolysis-
1242 GC/MS method for the identification of microplastics. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**,
1243 410, 6663-6676.
- 1244 115. Huppertsberg, S. & Knepper, T. P. Instrumental analysis of microplastics—benefits
1245 and challenges. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410, 6343-6352.
- 1246 116. Welden, N. A. C. & Cowie, P. R. Environment and gut morphology influence
1247 microplastic retention in langoustine, *Nephrops norvegicus*. *Environ. Pollut.* **2016**, 214,
1248 859-865.

Informació de suport

Mètodes analítics per a la determinació de micro- i nanoplàstics en aliments i begudes

M. Rimblas Fontserè

Universitat de Barcelona. Campus de l'Alimentació de Torribera.

Avda. Prat de la Riba 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet (Barcelona).

Pàgines S1 – S6

Taula 1 i Taula 2

E-mail autora: martarf13@gmail.com

ORGANISME/ESPÈCIE/ ALIMENT	Localització	PREVENCIÓ CONTAMINACIÓ			MOSTREIG				MÈTODES DE SEPARACIÓ				IDENTIFICACIÓ		QUANTIFICACIÓ				REF.
		Procés neteja ^a	Lloc de treball ^b	Control Blancs ^c	Recol·lecció ^d	Mitjana longitud	Mitjana pes	n	Dissecció ^e	Digestió	Densitat/ Flotació	Filtració ^f	Mètode	Nº Polimer s	Talla	Color (predomina)	Forma (predomina)	Nivell de contaminació	
INVERTEBRATS																			
-Hymenaciondon perlevis -Actinia equina -Ophiura sp	Holanda	---	---	BP (CP)	---	---	---	18	Teixits tous	HNO ₃ 65% (5 ml) H ₂ O ₂ 30% (1ml)	---	0,7 µm (FV)	Estereomicroscopi + µRaman	5	---	Si (Negre)	Si (Fibres)	---	1
CRUSTACIS																			
- Carcinus maenas - Gammarus spp	Holanda	---	---	BP	---	---	---	16	Teixits tous + TGI	HNO ₃ 45 min	---	0,7 µm (FV)	µFTIR	---	Si	Si	Si	11 ítems/g	2
N. norvegicus	Regne Unit	---	---	---	---	Si	---	1450	TGI	---	---	---	Estereomicroscopi + µFTIR	4	---	---	Si	0,2 – 0,6 ítems/mg	3
BIBALVES																			
-Chlamys farreri -M. galloprovincialis	Xina	E	NST + II	BP	C + S	Si	Si	100	TGI	KOH 10% 5:1 (v/v) / 24 h. / 60 °C	---	0,7 mm (FV)	Estereomicroscopi + µFTIR	4	Si	Si	Si	C: 1,9 ítems/individu S: 0,5 ítems/individu	4
Mytilus spp	Noruega	O + E	NST + II	BP (CN)	---	Si	Si	332	TGI	KOH 10% 10:1 (v/v) / 24 h. / 60 °C	---	2,7 µm (FV)	Estereomicroscopi + µFTIR	13	Si	---	Si	1,5 ítems/individu	5
Mytilus edulis	Holanda	---	---	BP (CN)	---	---	---	15	Teixits tous	HNO ₃ 65% / 5 ml + H ₂ O ₂ 30% / 1 ml	---	0,7 µm (FV)	Microscopi + µRaman	5	30-2000 µm	Si	Si	37 ítems/Kg	1
Mytilus edulis	Xina	E	---	BP (CP)	---	---	---	1100	Teixits tous	H ₂ O ₂ 30% 200 ml / 24 – 48 h / 65 °C	NaCl 1,2 g/ml 800 ml / 1Nit	5 µm (NC)	Estereomicroscopi + µFTIR + SEM/EDS	3	250µm- 5mm	---	Si (Fibres)	4 ítems/individu	6
Mytilus edulis	Regne Unit	ME	---	BP (CN)	S + M	---	---	162	Teixits tous	H ₂ O ₂ 30% 200 ml / 24 – 48 h / 65 °C	NaCl 1,2 g/ml 800 ml / 1Nit	5 µm (NC)	Estereomicroscopi + µFTIR	3	5µm- 4,7mm	---	Si (Fibres)	S: 8.63 ítems/individu M: 5.7 ítems/individu	7
Mytilus edulis	Regne Unit	ME + S	ARL	BP(CN)+ BA(CN)	---	Si	---	---	Teixits tous	Trypsina 0,31 % 25 ml / 30 min / 38 -42 °C	---	52 µm (G)	Estereomicroscopi + µFTIR	3	0,2- 10,7 mm	Si (Blau)	Si (Fibres)	1,05 – 4,4 ítems/g	8
Ostra C.gigas	França	O + E	NST	BP (CP)	---	Si	Si	12	Teixits tous	KOH 10% 50ml / 24 h / 60 °C	KI 50% 20 ml / 4 h Tª ambient	12 µm (NC)	Estereomicroscopi + µFTIR	3	20-100µm	Si (Gris)	---	2,10 ítems/individu	9
PEIXOS																			
-Platichthys flesus -Diplodus vulgaris -Dicentrarchus labrax	Portugal	E	NST + ARL	BA	PA (malla 5 mm)	Si	Si	120	TGI	KOH 10 % 3:1 (v-v) / 5 d. / 60 °C	---	1,2 µm (FV)	Estereomicroscopi + µFTIR	7	Si	Si	Si	3.4 ítems/individu	10
-Sardina Pilchardus -Pagellus erythrinus	Grècia	O + E	NST	BP (CN)	PA	Si	Si	135	TGI	H ₂ O ₂ 30 % 1:20 (w/v) / 55 – 65 °C	---	1,2 µm (FV)	Estereomicroscopi + µFTIR	5	Si	Si	Si	1.8 ítems/individu 1.9 ítems/individu 1.5 ítems/individu	11
-Scyllorhinus canicula -Merluccius merlucciu -Mullus barbatus	Espanya	O + E	NST	BA	PA	---	---	212	TGI	NaOH 10 ml / 21 d.	---	---	Esteromicroscopi	---	0,38- 3,1 mm	Si (Negre)	Si (Fibres)	1.56 ítems/individu	12
B. boops	Espanya	O + E	NST	BA	PA (malla 40 mm)	Si	Si	337	TGI	---	---	---	Esteromicroscopi	---	1 - 5mm	Si	Si(Filament)	3,75 ítems/individu	13
Mullus surmuletus	Espanya	O + E	NST	BA	PA + PX	Si	Si	417	TGI	---	---	---	Esteromicroscopi	6	---	Si (Blau)	Si(Filament)	0.42 ítems/individu	14
-E. encrasicolus -S. pilchardus -C. harengus	Espanya Regne Unit	E	CFL + NST	BP (CN)	PX	Si	Si	30	Fetge	NaClO 9% 1 Nit	---	---	Estereomicroscopi + µRaman	9	124-438 µm	---	---	80% contenen MPs	15
Salmo trutta	Suècia	---	---	BP (CP)	PE	---	---	62	TGI	Proteinase K+H ₂ O ₂ 500µg/ml />2 h /50-60 °C	---	1,2 µm (FV)	Microscopi + µFTIR	5	---	Si	Si	---	1
-Neogobius melanostomus -Barbus barbus	Alemanya França	ME	CF	BP (CN)	---	Si	Si	25	TGI	NaOH 1M / 5 – 75 ML + HNO ₃ 65% / 17 – 221 ml 45 min / 50 - 80°C	Nal pur 5 min.	8 µm (NC)	Estereomicroscopi + punt d'agulla calenta	9	900-100 µm	Si (Blau)	Si (Fibres)	1.0 ítems/individu 1.25 ítems/individu	16
Varies espècies	Xina	ME	NST	BP (CN)	---	Si	Si	162	TGI	H ₂ O ₂ 30 % 200-400 ml/24-72 h/65 °C	NaCl 1,2 g/ml 800 ml / 1Nit	5 µm (NC)	Microscopi + µFTIR	---	0,04-5 mm	---	Si (Fibres)	1,1 a 7,2 ítem/individu	17
-C. harengus -S. pilchardus -E. encrasicolus	Espanya França Regne Unit	E	CFL	BP (CN)	---	Si	---	60	TGI	NaClO 9% Metanol 99% /1 Nit	---	5 µm (AC)	Microscopi +µRaman	8	0,13- 22,4 mm	---	Si (Fibres)	---	18
TORTUGUES																			
Tortugues verdes	Austràlia	E	---	BP (CN)	S	---	---	2	TGI	HNO ₃ 69% 3:1 (w/w) / 1 Nit 20°C +80°C	---	100 µm (acer)	µFTIR (ATR)	5	---	---	---	---	19
ALIMENTS																			
Sal marina de taula	EEUU	ME	CFL	BP (CN)	---	---	---	12	---	---	---	Filtració Doble 50 g sal en 1 L H ₂ O 11 µm (C)	Tinció + mesura durabilitat +Estereomicroscopi	---	Si	Si	Si	212 ítems/Kg	20
BEGUDES																			
-Aigua de l'aixeta -Aigua d'ampolla	14 països diferents	ME	CFL	BP (CN)	---	---	---	159	---	---	---	Filtració doble 551 ml H ₂ O 2,2 µm (C)	Tinció + mesura durabilitat +Estereomicroscopi	---	Si	Si	Si	5,45 ítems/L	20
Cervesa (elaborada amb aigua d'aixeta)	EEUU	ME	CFL	BP (CN)	---	---	---	12	---	---	---	Filtració doble 1 L cervesa 11 µm (C)	Tinció + mesura durabilitat +Estereomicroscopi	---	Si	Si	Si	4,05 ítems/L	20
ANIMALS TERRESTRES																			
Pollastre (G. gallus domesticus)	Mèxic	---	---	---	---	---	---	5	Pap i pedrer	---	---	---	Estereomicroscopi	---	1 – 10 mm	---	---	45.8 ítems/pedrer 11 ítems/pap	21
ALTRES																			
Bosses de té	Canadà	E	NST	BP (CN)	---	---	---	4	---	---	---	Filtració (FV)	SEM +µFTIR (ATR) + XPS	2	Si	Si	Si	11,6 bilions MPs + 3,1 bilió NPs per bossa de té	22

Taula 1. Resum dels mètodes analítics utilitzats en els 22 estudis revisats. Descripció de la taula a la pàgina S3.

Descripció de la taula 1:

^a O: Observació sota esteromicroscopi; E: Esbandit amb aigua o producte químic; ME: Múltiple esbandit

^b CFL: Cabina de Flux Laminar o similar; NST: Neteja de la superfície de treball; CF: Campana de fums; ARL: Accés Restringit al Laboratori o similar; II: Incubadora infantil

^c BP: Blancs del procés; BA: Blancs d'Atmosfera; BO: Blancs Observacionals; CN: Control Negatiu; CP: Control Positiu

^d PA: Pesca d'Arrossegament; PX: Pesca amb Xarxa; PE: Pesca Elèctrica; S: Salvatges; C: Cria; M: Mercat o botiga

^e TGI: Tracte Gastrointestinal

^f PC: Policarbonat; C: Cel·lulosa ; AC: Acetat Cel·lulosa; FV: Fibra de Vidre; NC: Nitrat de Cel·lulosa; G: Gasa

RECOMPTE GRÀFICS		
Matrius estudis	Nº mostres	%
Invertebrats	3	7,5
Crustacis	3	7,5
Bibalves	8	20
Peixos	20	50
Tortugues	1	2,5
Sal de taula	1	2,5
Begudes	2	5
Pollastre	1	2,5
Bosses de tè	1	2,5
Total	40	
Mètodes de separació	Nº mostres	%
Dissecció	4	13
Digestió àcida	4	13
Digestió alcalina	6	19
Digestió oxidativa	6	19
Digestió enzimàtica	2	6
Digestió + Densitat	5	16
Filtració	4	13
Total	31	
Mètodes identificació	Nº mostres	%
Visual/Microscopi	6	23
SEM	2	8
μ-FTIR	14	54
μ-Raman	4	15
Total	26	

Taula 2. Recompte del nombre de mostres per elaborar els diagrames de sectors del gràfic 1.Nº

total d'estudis revisats = 22

REFERÈNCIES

1. Karlsson, T. M. et al. Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, 122.1-2: 403-408.

2. Leslie, H. A., Brandsma, S. H., van Velzen, M. J. M. & Vethaak, A. D. Microplastics en route: Field measurements in the Dutch river delta and Amsterdam canals, wastewater treatment plants, North Sea sediments and biota. *Environ. Int.* **2017**, 101, 133-142.
3. Welden, N. A. C. & Cowie, P. R. Environment and gut morphology influence microplastic retention in langoustine, *Nephrops norvegicus*. *Environ. Pollut.* **2016**, 214, 859-865.
4. DING, J. F. et al. Separation and Identification of Microplastics in Digestive System of Bivalves. *Chinese J. Anal. Chem.* **2018**, 46, 690-697 .
5. Lise, I. et al. *Mytilus* spp. as sentinels for monitoring microplastic pollution in Norwegian coastal waters: A qualitative and quantitative study. *Environ. Pollut.* **2018**, 243, 383-393.
6. Li, J. et al. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environmental Pollution.* **2016**, 214: 177-184.
7. Li, J., Green, C., Reynolds, A., Shi, H. & Rotchell, J. M. Microplastics in mussels sampled from coastal waters and supermarkets in the United Kingdom. *Environmental pollution.* **2018**, 241: 35-44.
8. Courtene-Jones, W., Quinn, B., Murphy, F., Gary, S. F. & Narayanaswamy, B. E. Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods for the analysis of ingested microplastics. *Analytical Methods.* **2017**, 9.9: 1437-1445.
9. Phuong, N. N., Poirier, L., Pham, Q. T., Lagarde, F. & Zalouk-Vergnoux, A. Factors influencing the microplastic contamination of bivalves from the French Atlantic coast: Location, season and/or mode of life? *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 129, 664-674.
10. Bessa, F. et al. Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine environment. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 128: 575-584.

11. Digka, N., Tsangaris, C., Torre, M., Anastasopoulou, A. & Zeri, C. Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 135: 30-40.
12. Bellas, J., Martínez-Armental, J., Martínez-Cámara, A., Besada, V. & Martínez-Gómez, C. Ingestion of microplastics by demersal fish from the Spanish Atlantic and Mediterranean coasts. *Mar. Pollut. Bull.* **2016**, 109, 55-60.
13. Nadal, M. A., Alomar, C. & Deudero, S. High levels of microplastic ingestion by the semipelagic fish bogue *Boops boops* (L.) around the Balearic Islands. *Environ. Pollut.* **2016**, 214, 517-523.
14. Alomar, C. et al. Microplastic ingestion by *Mullus surmuletus* Linnaeus, 1758 fish and its potential for causing oxidative stress. *Environ. Res.* **2017**, 159, 135-142.
15. Collard, F. et al. Microplastics in livers of European anchovies (*Engraulis encrasicolus*, L.). *Environ. Pollut.* **2017**, 229, 1000-1005.
16. Roch, S. & Brinker, A. Rapid and Efficient Method for the Detection of Microplastic in the Gastrointestinal Tract of Fishes. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 4522-4530.
17. Jabeen, K. et al. Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environ. Pollut.* **2017**, 221, 141-149.
18. Collard, F. et al. Morphology of the filtration apparatus of three planktivorous fishes and relation with ingested anthropogenic particles. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, 116, 182-191.
19. Caron, A.G.M. et al. Validation of an optimised protocol for quantification of microplastics in heterogenous samples: A case study using green turtle chyme. *MethodsX*, **2018**, 5: 812-823.
20. Kosuth, M., Mason, S. A. & Wattenberg, E. V. Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PloS one*. **2018**, 13.4.

21. Huerta Lwanga, E. et al. Field evidence for transfer of plastic debris along a terrestrial food chain. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 1-7.
22. Hernandez, L. M. et al. Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, 53.21: 12300-12310.